



ResistancePlus[®] MG

Realtime multiplex-PCR-assay voor de identificatie van *Mycoplasma genitalium* en de detectie van mutaties die worden geassocieerd met resistentie tegen azithromycine



Product	Platform	Aantal (reacties)	Catalogusnr.
ResistancePlus [®] MG FleXible	GeneXpert [®] (I, II, IV, XVI), en Infinity- (48s, 80) Instrument Systems	10	REF S2A-2000410



MedEnvoy
Prinses Margrietplantsoen 33 – Suite 123
2595 AM The Hague
Nederland



SpeedX Pty Ltd
Suite 102 National Innovation Centre
4 Cornwallis Street,
Eveleigh, NSW 2015, Australië
Tel.: +61 2 9209 4170, e-mail: tech@speedx.com.au

UITSLUITEND VOOR PROFESSIONEEL GEBRUIK

Niet te koop in de VS

Inhoud

1	Beoogd gebruik	4
2	Samenvatting en uitleg van de test	4
2.1	Beschrijving van pathogenen	4
2.2	Principe van de procedure	4
2.3	Principe van de technologie	4
3	Inhoud van de kit.....	7
4	Vervoer en opslag.....	7
5	Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen	7
5.1	Algemeen.....	7
5.2	Laboratorium.....	8
5.3	Verwerking van specimens.....	8
5.4	Assay/reagens	8
5.5	Veiligheidsvoorzorgsmaatregelen	8
6	Bijbehorende producten en verbruiksmaterialen	9
7	Overzicht procedure.....	10
8	Gedetailleerde procedure.....	11
8.1	Monsterafname, transport en opslag.....	11
8.1.1	Gevalideerde hulpmiddelen voor het verzamelen van monsters	11
8.1.2	Xpert® vaginale/endocervicale afnamekit voor monsters (Cepheid, cat. nr. SWAB/A-50) - afname, transport en opslag.....	11
8.1.3	Xpert®-afnamekit voor monsters (Cepheid, cat. nr. SWAB/G-50) - afname, transport en opslag.....	12
8.1.4	Xpert®-afnamekit voor urinemonsters (Cepheid, cat. nr. URINE/A-50) - verzamelen, transport en opslag	13
8.1.5	Steriele urine-opvangbeker – afname, transport en opslag	13
8.1.6	Standaard FLOQSwab™ in 3 mL UTM™-medium (Copan, cat. nr. 346C of 306C (VS)) - afname, transport en opslag.....	13
8.1.7	Cobas® PCR-medium (Roche, cat. nr. 06466281190) - afname, transport en opslag	14
8.1.8	Droog wattenstaafje, geresuspendeerd in 3 mL PBS - afname, transport en opslag.....	14
8.2	Bereiding van MG Flexible-reactiemengsel	14
8.3	Monster toevoegen.....	17
9	Het instrument programmeren	19
9.1	De ADF in de software importeren	19
9.2	De test starten.....	20
10	Kwaliteitscontrole	21
11	Instructies voor <i>ResistancePlus</i> ® MG S2A Positive Control	22
11.1	Gebruiksaanwijzing	22
11.1.1	Bereiding van positief controlemonster met een micropipet.....	22
11.1.2	Bereiding van positief controlemonster met een overdrachtpipet	22
12	Interpretatie van de resultaten.....	23
13	Voorbeeldresultaten	25
14	Beperkingen.....	30
15	Prestatiekarakteristieken	31
15.1	Klinische prestaties	31
15.2	Analytische prestaties	32
15.2.1	Reproduceerbaarheid.....	32
15.2.2	Analytische gevoeligheid.....	35
15.2.3	Inclusiviteit.....	35
15.2.4	Kruisreactie met andere 23S rRNA-mutaties.....	35



15.2.5	Analytische specificiteit.....	36
15.2.6	Potentieel interfererende substanties	36
15.2.7	Studie naar vervuiling door overdracht	38
16	Klantenondersteuning en technische ondersteuning.....	39
17	Referenties.....	40
18	Woordenlijst	41

1 Beoogd gebruik

De **ResistancePlus**[®] MG FleXible-assay is een kwalitatieve, diagnostische, realtime multiplex PCR *in vitro* test voor de identificatie van *M. genitalium* en de detectie van mutaties in het 23S rRNA-gen (A2058G, A2059G, A2058T en A2058C, nummering *Escherichia coli*) die geassocieerd zijn met resistentie tegen azitromycine (macrolide-antibioticum). De kit is bedoeld als hulpmiddel bij de diagnose van *M. genitalium* en detecteert mutaties geassocieerd met resistentie tegen azitromycine bij *M. genitalium*. De kit dient samen met klinische en andere laboratoriuminformatie te worden gebruikt.

De **ResistancePlus**[®] MG FleXible-assay kan worden gebruikt met de volgende soorten specimina: mannelijke en vrouwelijke urine, vaginale uitstrijkjes, cervicale uitstrijkjes, rectale uitstrijkjes en urethrale uitstrijkjes van symptomatische en asymptomatische patiënten.

Negatieve resultaten sluiten infecties met *M. genitalium* niet uit en zijn geen bevestiging van gevoeligheid voor azitromycine, aangezien er andere mechanismen kunnen zijn waardoor de behandeling mislukt.

De **ResistancePlus**[®] MG FleXible-assay is bedoeld voor gebruik in een professionele omgeving, zoals in ziekenhuizen, referentie- en overheidslaboratoria. De kit is niet bedoeld voor zelftests, thuisgebruik of point-of-care-gebruik.

De **ResistancePlus**[®] MG FleXible-assay wordt uitgevoerd met GeneXpert[®]-instrumentsystemen.

2 Samenvatting en uitleg van de test

2.1 Beschrijving van pathogenen

M. genitalium is een kleine bacterie die gevonden wordt in de menselijke urinewegen en die is geassocieerd met een reeks seksueel overdraagbare ziekten (STI's). Bij mannen is het de op één na meest voorkomende oorzaak van niet-gonorroïsche urethritis (NGU), en is het verantwoordelijk voor 15 tot 40% van alle gevallen¹. Het wordt bovendien ook geassocieerd met prostatitis, epididymitis en balanoposthitis, ontsteking van de eikel van de penis en de voorhuid². Bij vrouwen is het geassocieerd met cervicitis, bekken ontstekingsziekte (PID), inclusief endometritis (ontsteking van de binnenkant van het endometrium) en salpingitis (ontsteking van de eileiders)^{3,4}.

Azitromycine wordt gewoonlijk gebruikt voor de behandeling van infecties met *M. genitalium* en voor de syndroombeheersing van SOI's zoals NGU en cervicitis. Azitromycine behoort tot de macrolidenklasse van antibiotica en werkt door binding aan 23S rRNA om de eiwitsynthese te remmen. Puntmutaties in het 23S rRNA-gen van *M. genitalium*, A2058G, A2059G, A2058T, A2058C en A2059C (*E. coli*-nummering) zijn geassocieerd met mislukte behandelingen en/of *in vitro* resistentie tegen azitromycine^{5,6}. De meest voorkomende mutaties zijn A2058G en A2059G⁷.

2.2 Principe van de procedure

De **ResistancePlus**[®] MG FleXible-assay is een *in vitro* diagnostische, realtime PCR-test voor de identificatie van *M. genitalium* en de detectie van mutaties in het 23S rRNA-gen (A2058G, A2059G, A2058T en A2058C, nummering *Escherichia coli*) die geassocieerd zijn met resistentie tegen azitromycine (macrolide-antibioticum). De **ResistancePlus**[®] MG FleXible-assay wordt uitgevoerd met Cepheid GeneXpert[®]-instrumentsystemen.

Cepheid GeneXpert[®]-instrumentsystemen integreren monsterzuivering, versterking van nucleïnezuren, real-time PCR-detectie en rapportage van de resultaten. Het systeem bestaat uit een instrument en een personal computer, met reeds geïnstalleerde software om assays uit te voeren en de resultaten te bekijken. Raadpleeg de passende bedieningshandleiding voor GeneXpert[®]-instrumentsystemen voor meer informatie.

Voor de **ResistancePlus**[®] MG FleXible-assay zijn FleXible-wegwerppatronen nodig, waar de gebruiker het monster en het PCR reactiemengsel aan toevoegt, waarna de patroon in het instrument wordt geladen.

De **ResistancePlus**[®] MG FleXible-assay bevat een interne controle om de extractie-efficiëntie en PCR-remming te bepalen. De interne controlecellen bevatten het interne controle DNA-sjabloon dat aan het monster wordt toegevoegd en dat wordt meegeëxtraheerd en meeversterkt in de real-time PCR-reactie. De interpretatie van resultaten van de **ResistancePlus**[®] MG FleXible-assay is geautomatiseerd door de GeneXpert[®] Dx System- of Infinity Xpertise-software van gemeten fluorescentiesignalen en ingesloten berekeningsalgoritmen, om de detectie van *M. genitalium* en 23S rRNA-mutaties te bepalen.

De **ResistancePlus**[®] MG FleXible-assay gebruikt **PlexPrime**[®]-primers voor gevoelige en specifieke amplificatie van 23S rRNA-mutatietargets en **PlexZyme**[®]-enzymen voor gevoelige en specifieke gemultiplexte real-time PCR-detectie van targetreeksen.

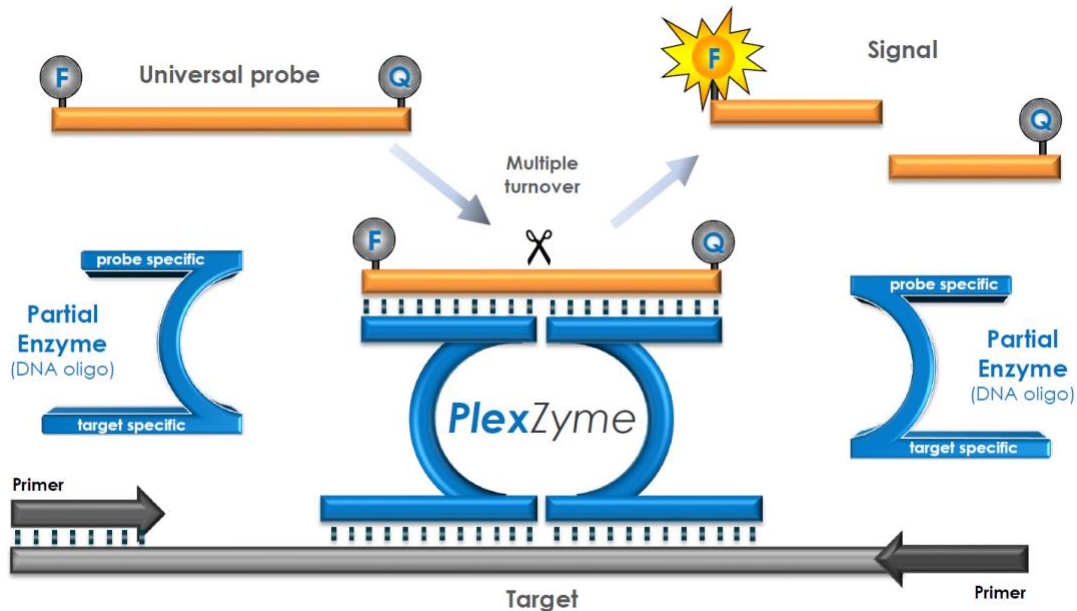
2.3 Principe van de technologie

Realtime-PCR (qPCR) kan worden gebruikt voor de amplificatie en detectie van specifieke doel-nucleïnezuren van pathogenen. **PlexPCR**[®] is een real-time PCR-technologie waarbij wordt gebruikgemaakt van **PlexZyme**[®]-enzymen, die het geamplificeerde product detecteren en melden door het genereren van een fluorescentiesignaal (**Afbeelding 1**). **PlexPrime**[®]-primers kunnen worden gebruikt voor specifieke amplificatie van mutantereeksen gekoppeld met mutantspecifieke **PlexZyme**[®]-detectie (**Afbeelding 2**).

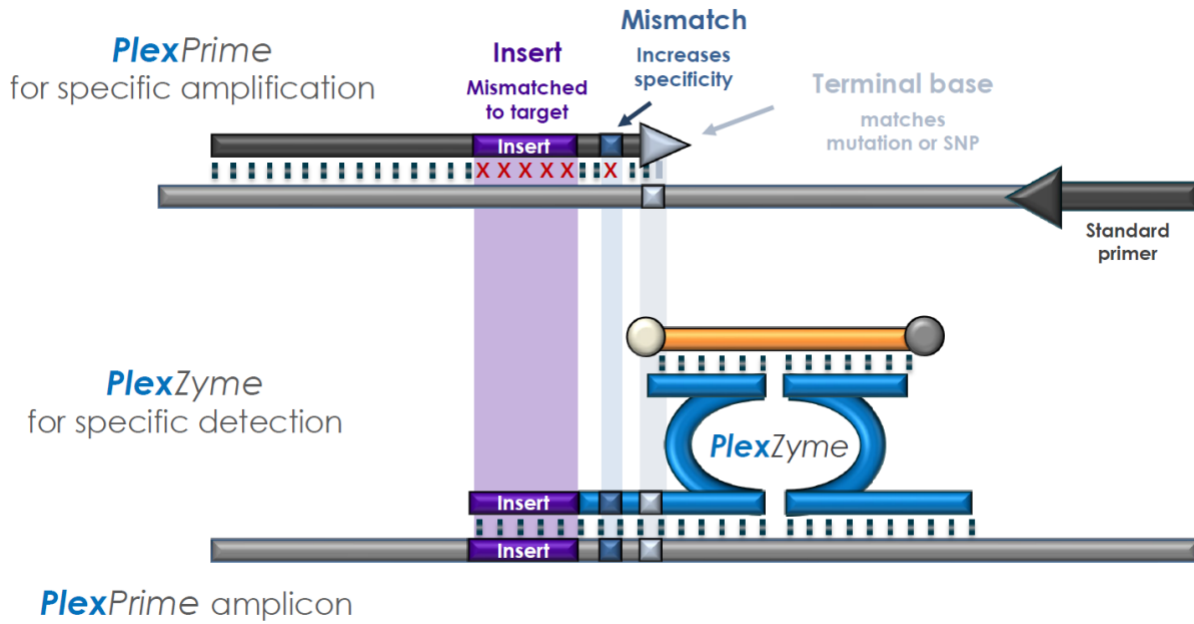
PlexZyme[®]-enzymen zijn katalytische DNA-complexen die bestaan uit twee DNA-oligo's die 'partiële enzymen' worden genoemd. Elk partieel enzym heeft een doelspecifiek gebied, een katalytische kern en een gebied dat aan een universele probe bindt. Als het doelproduct aanwezig is, binden de twee partiële enzymen naast elkaar en vormen zo het actieve **PlexZyme**[®] dat de katalytische activiteit bezit om een gelabelde probe te splitsen. Door deze splitsing worden de fluoroforen en quencherkleurstof van elkaar gescheiden, waardoor een fluorescentiesignaal wordt geproduceerd dat realtime kan worden gevolgd. **PlexZyme**[®]-enzymen hebben in vergelijking met andere detectietechnologieën extra specificiteit, omdat er binding van twee partiële enzymen nodig is voor detectie. Bovendien zijn **PlexZyme**[®]-enzymen 'multiple-turnover'-enzymen, zodat in elke PCR-cyclus meerdere probes kunnen worden gesplitst, wat tot een sterk en gevoelig signaal leidt. **PlexZyme**[®]-assays zijn zeer gevoelig en specifiek en uitermate geschikt voor multiplexdetectie van pathogenen.

PlexPrime[®] primers hebben drie functionele gebieden. Het lange 5'-gebied verankert de primer op een specifieke locatie en het korte 3'-gebied richt zich selectief op de extensie van de mutantbase. Er ligt een insertiesequentie tussen de 5'- en 3'-gebieden die als een brugstructuur fungeert en een target-onafhankelijke sequentie in het resulterende amplicon invoegt om de selectieve druk van het 3'-gebied verhogen. Bij multiplex is iedere **PlexPrime**[®]-primer ontworpen om zich op een specifieke mutantbase te richten en omvat deze een unieke insertiesequentie, waardoor onderscheiden gemuteerde ampliconsequenties worden geproduceerd. In tegenstelling tot andere probe-gebaseerde detectietechnologieën kan het **PlexZyme**[®]-enzym worden overlapt met de **PlexPrime**[®]-primer om te mikken op het specifieke gemuteerde amplicon dat de mutantbase en de erin opgenomen insertiesequentie bevat. De unieke combinatie van **PlexPrime**[®]-primers gekoppeld met **PlexZyme**[®]-enzymen maakt de specifieke amplificatie van gemuteerde sequenties en de gevoelige en specifieke detectie bij multiplex mogelijk.

Afbeelding 1. Schematische voorstelling van **PlexZyme**[®]-detectie en universele signalering



Afbeelding 2. Schematische representatie van de *PlexPrime*[®]-primer gekoppeld aan *PlexZyme*[®]-detectie. De *PlexPrime*[®]-primer amplificeert specifiek de mutantreeks en *PlexZyme*[®]-enzymen detecteren specifiek het amplicon.



3 Inhoud van de kit

Aantal tests: 10 reacties

Tabel 1. Inhoud van de <i>ResistancePlus</i> [®] MG Flexible-kit					
Doosnr.	Onderdeel nr.	Kleur dop	Inhoud	Beschrijving	Hoeveelheid
1	2000410-R	Blauw	<i>Plex</i> Mastermix, 2x	Mastermix met de benodigde componenten voor qPCR inclusief dNTP's, DNA-polymerase en buffer	1 x 440 µL
		Bruin	MG+23S Mix, 20x (MG+23S-mix, 20x)	Mix met oligonucleotiden [^] voor amplificatie en detectie van <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-mutaties en interne controle	1 x 50 µL
		Rood	Internal Control cells (interne controlecellen) [#]	Interne controlecellen met DNA-matrijs voor interne controle voor het bepalen van de extractie- en amplificatie-efficiëntie	1 x 100 µL
		n.v.t.	<i>ResistancePlus</i> [®] MG Flexible labels (<i>ResistancePlus</i> [®] MG Flexible-etiketten) [*]	Patroonlabels met partijspecifieke streepjescode, hoofdpartijnummer, houdbaarheidsdatum en ADF-informatie.	10 etiketten
		n.v.t.	MG Flexible Mix label (MG Flexible Mix-etiket)	Etiket ter identificatie van het gecombineerde MG Flexible-reactiemengsel (optioneel gebruik)	1 etiket
2	2000410-CART	n.v.t.	<i>ResistancePlus</i> [®] MG Flexible Cartridge (<i>ResistancePlus</i> [®] MG Flexible-patroon)	Wegwerppatroon voor monsterverwerking en amplificatie en detectie van nucleïnezuuren	10 patronen

[#] Bewaar buisjes met matrijzen gescheiden van oligomixen, bijvoorbeeld in een ruimte voor het hanteren van matrijzen of nucleïnezuuren.

[^] Oligonucleotiden zijn PCR-primerparen (inclusief *PlexPrime*[®]-primers), *PlexZyme*[®]-enzymen en fluorescerende sondes

^{*} **Patroonetiketten niet weggooien**

4 Vervoer en opslag

- De assay-reagentia (opgenomen in doos 1) van de *ResistancePlus*[®] MG Flexible-kits worden op droogijs of met bevroren gelpacks verzonden. Na ontvangst de assay-componenten opslaan bij -25°C tot -15°C. Aanbevolen wordt het aantal invries-ontdooicycli te beperken tot minder dan 8. Zie **paragraaf 8.2** voor opslagcondities en aanbevelingen voor het bevriezen/ontdooien van het gecombineerde MG Flexible-reactiemengsel.
- De *ResistancePlus*[®] MG Flexible-patronen worden verzonden en opgeslagen bij 2 °C – 28 °C.
- Als de kit wordt opgeslagen onder de aanbevolen omstandigheden en er op de juiste wijze mee wordt omgegaan, blijft de activiteit van de kit behouden tot de op het etiket vermelde houdbaarheidsdatum. Niet meer gebruiken na de houdbaarheidsdatum.
- Elk ernstig incident moet worden gemeld aan SpeedX door contact op te nemen met tech@speedx.com.au

5 Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

5.1 Algemeen

- Uitsluitend voor *in vitro* diagnostisch gebruik.
- Lees deze instructies zorgvuldig voor het gebruik. Volg nauwkeurig de beschreven procedures om voor betrouwbare testresultaten te zorgen. Elke afwijking van deze procedures kan de testresultaten beïnvloeden.
- Gebruikers moeten goed getraind zijn in het gebruik van de *ResistancePlus*[®] MG Flexible-assay.
- Elk ernstig incident moet worden gemeld aan de fabrikant en de bevoegde autoriteit van de lidstaat waar de gebruiker en/of de patiënt is gevestigd.

5.2 Laboratorium

- Elementaire voorzorgsmaatregelen ter voorkoming van verontreiniging van PCR-reacties zijn onder meer het gebruik van steriele filterpipetpunten voor de bereiding van het PCR-reactiemengsel, het gebruik van een nieuwe pipetpunt voor elke pipettering en scheiding van de workflow.
- Het wordt aanbevolen om mastermixbereiding, monstertoevoeging en de temperatuurcyclus op ruimtelijk gescheiden plaatsen uit te voeren. Het PCR-instrument moet zich bij voorkeur bevinden in een kamer die gescheiden is van ruimten waar reacties worden voorbereid.
- Het verdient aanbeveling om routinematige laboratoriumvoorzorgsmaatregelen te nemen. Draag geschikte persoonlijke beschermingsmiddelen, zoals handschoenen, een beschermende bril en een laboratoriumjas bij het hanteren van de reagentia.
- Pathogene organismen kunnen aanwezig zijn in klinische specimens en in gebruikte patronen. Behandel alle biologische specimens en gebruikte patronen als potentieel infecterend en volg de veiligheidsprocedures van uw instelling bij de verwerking van chemicaliën en biologische monsters.
- Volg de procedures voor het afvoeren van gevaarlijk afval van uw instelling voor de juiste afvoer van gebruikte patronen.

5.3 Verwerking van specimens

- Specimens moeten worden verzameld, vervoerd en opgeslagen met standaard laboratoriumtechnieken of volgens de gebruiksaanwijzingen van de verzamelkit.

5.4 Assay/reagens

- Open het deksel van de patroon niet behalve om het reactiemengsel en een monster toe te voegen.
- Gebruik geen patroon dat beschadigd lijkt, gevallen is of geschud werd, of dat tekenen vertoont van lekkend of kristalliserend reagens.
- Plaats het etiket met het monster-id niet op het deksel of op het streepjescode-etiket van de patroon.
- Gebruik geen patroon met een beschadigde reactiebuis.
- Elke patroon is bedoeld voor eenmalig gebruik. Gebruik geen verwerkte patronen.
- Gebruik geen reagentia, patronen en etiketten van verschillende hoofdpartijnummers.
- De testreagentia bevatten IDTE-buffer die ernstige oogirritatie kan veroorzaken. Geadviseerd wordt om de reagentia in een goed geventileerde ruimte te gebruiken en om bij het werken met de reagentia passende persoonlijke beschermingsmiddelen te dragen, zoals handschoenen, oogbescherming en een laboratoriumjas.

5.5 Veiligheidsvoorzorgsmaatregelen



WAARSCHUWING - Lysis-reagens (in de patroon) bevat guanidine thiocynaat

Gevarenklasse:

- Acute toxiciteit oraal 4.
- Huid milde irritatie 3.
- Ogen milde irritatie 2B.

Gevarenaanduidingen:

- H302: Schadelijk bij inslikken.
- EUH301: Vormt zeer giftig gas in contact met zuren.

Voorzorgsmaatregelen:

- P264: Grondig wassen na het werken met dit product.
- P270: Niet eten, drinken of roken tijdens het gebruik van dit product.
- P301+P312: NA INSLIKKEN: Bij onwel voelen onmiddellijk het antigifcentrum of een arts raadplegen.
- P330: De mond spoelen.
- P501: Inhoud/verpakking afvoeren in overeenstemming met lokale, regionale, nationale en/of internationale regelgeving.

Op aanvraag zijn veiligheidsgegevensbladen (SDS) verkrijgbaar. Neem contact op met technische ondersteuning in **paragraaf 16** voor meer informatie.

6 Bijbehorende producten en verbruiksmaterialen

Positief controlemateriaal

- **ResistancePlus**[®] MG S2A kit voor positieve controle (SpeeDx, art. nr. S2A-95004)

Algemene verbruiksartikelen voor lab

- Handschoenen en schone laboratoriumjassen
- Vortexmixer
- Tafelcentrifuge voor buisjes van 1,5 mL
- Micropipetten voor het bereik 10-100 µL
- Steriele aerosol-resistente, DNase-/RNase-vrije pipetpunten
- Steriele transferpipetten waarmee minimaal 1 mL kan worden overgebracht

Voor het GeneXpert[®]-instrument

- GeneXpert[®]-instrumentsysteem: GeneXpert[®]-instrument, computer met GeneXpert[®]-softwareversie 4.7b of hoger
- Streepjescodescanner

Voor de GeneXpert Infinity-48s of Infinity-80:

- Xpertise-software versie 6.4b of hoger

Hulpmiddelen voor het verzamelen van monsters

- Xpert[®] kit voor afname van vaginale/endocervicale monsters (Cepheid, art. nr. SWAB/A-50)
- Xpert[®] kit voor afname van een uitstrijkje (Cepheid, art. nr. SWAB/G-50)
- Xpert[®] kit voor afname van urine (Cepheid, art. nr. URINE/A-50)
- Steriele verzamelbeker voor urine
- Regular FLOQSwab[™] in 3 mL UTM[™]-medium (Copan, art. nr. 346C or 306C (USA))
- Cobas[®] PCR-medium (Roche, art. nr. 06466281190)
- Droog wattenstaafje, geresuspendeerd in 3 mL PBS

7 Overzicht procedure

Afbeelding 3. Overzicht procedure

Gebied bereiding

Streepjescode-etiket
aanbrengen

Reactiemengsel
bereiden

Reactiemengsel
toevoegen

Gebied monsterpreparatie/toevoeging

Monster toevoegen

Interne controle toevoegen

Thermocyclergebied

Run uitvoeren

Resultaten

Test Result	Analyse Result	Detail	Errors	Hi	Version
Assay Name	ResistancePlus MG Flexible				
Test Result	N. gonorrhoeae DETECTED; 23S rRNA mutation DETECTED				
For In Vitro Diagnostic Use Only.					

8 Gedetailleerde procedure

Opmerking: Geleverde reagentia zijn cursief weergegeven, met daarachter tussen haakjes de kleur van de deksel van het buisje.

8.1 Monsterafname, transport en opslag

Urine van mannen en vrouwen, uitstrijkjes van de vagina, uitstrijkjes van de cervix, uitstrijkjes van het rectum en uitstrijkjes van de urethra van symptomatische en asymptomatische patiënten moeten worden verzameld, vervoerd en opgeslagen met behulp van standaard laboratoriumtechnieken of volgens de gebruiksaanwijzing van de verzamelkit.

8.1.1 Gevalideerde hulpmiddelen voor het verzamelen van monsters

Het niet adequaat of onjuist afnemen, bewaren en transporteren van monsters zal waarschijnlijk resulteren in onjuiste testresultaten. Een goede training in het afnemen van monsters wordt met klem geadviseerd om de kwaliteit en stabiliteit van het monster te garanderen.

Hulpmiddelen voor monsterafname die met de **ResistancePlus**[®] MG FlexiBle kit zijn gevalideerd, staan hieronder vermeld met een korte handleiding op basis van de instructies van de fabrikant van het hulpmiddel voor het afnemen, hanteren en transporteren van monsters. Deze instructies zijn niet bedoeld ter vervanging of verbetering van de instructies van de fabrikant. Raadpleeg altijd de instructies van de fabrikant van het hulpmiddel voor het afnemen van monsters voor de juiste methodes van afname.

Voorafgaand aan elke methode van afname moet getraind personeel ervoor zorgen dat het hulpmiddel en de gebruikte methodes goed worden begrepen. Bestudeer op z'n minst de beschrijving van de test op het volgende: aanduiding van het type monster, voldoende monstervolume, procedure(s), benodigd afnamemateriaal, voorbereiding van de patiënt en de juiste instructies voor het hanteren en bewaren van de monsters.

8.1.2 Xpert[®] vaginale/endocervicale afnamekit voor monsters (Cepheid, cat. nr. SWAB/A-50) - afname, transport en opslag

8.1.2.1 Vagina-uitstrijkje - afname, transport en opslag

Hieronder worden de aanwijzingen samengevat voor de afname en het transport van vagina-uitstrijkjes met de Xpert[®] vaginale/endocervicale afnamekit voor monsters (Cepheid, cat .nr. SWAB/A-50)

1. Open de buitenverpakking (die de tweedelige kit bevat), identificeer het grotere reinigingswattenstaafje en gooi dit weg.
2. Open de verpakking die het Xpert-transportmediumbuisje met de roze dop bevat en het apart verpakte wattenstaafje voor monsterafname. Zet het buisje apart voordat u begint met de afname van het monster.
3. Open de verpakking van het wattenstaafje door de bovenkant van de verpakking open te trekken.
4. Neem het wattenstaafje uit de verpakking en zorg ervoor dat u de punt niet aanraakt of ergens neerlegt. Vraag om een nieuwe afnamekit als de zachte punt wordt aangeraakt, het wattenstaafje wordt neergelegd of het wattenstaafje valt.
5. Houd het wattenstaafje in uw hand en plaats uw duim en wijsvinger in het midden van de steel van het wattenstaafje.
6. Breng het wattenstaafje voorzichtig in uw vagina in, ongeveer 5 cm vanaf de vaginaopening, en draai het zachtjes 10 tot 30 seconden rond. Zorg ervoor dat het wattenstaafje de wanden van de vagina raakt, zodat het wattenstaafje vocht opneemt.
7. Neem het wattenstaafje voorzichtig uit de vagina.
8. Terwijl u het wattenstaafje in dezelfde hand houdt, draait u de dop los van het Xpert-transportmediumbuisje.
9. Mors niet met de inhoud van het buisje. Vraag om een nieuwe afnamekit als u de inhoud van het buisje gemorst heeft.
10. Plaats het wattenstaafje meteen in het buisje met het transportmedium.
11. Identificeer de markering op de steel van het wattenstaafje. Breek de steel voorzichtig tegen de zijkant van het buisje bij de markering en gooi het bovenste deel van de steel weg; doe dit voorzichtig om spatten van de inhoud te voorkomen.
12. Draai de dop weer op het transportmediumbuisje en draai deze goed vast.
13. Draai het buisje voorzichtig 3-4 keer om of schud het voorzichtig om materiaal uit het wattenstaafje te elueren. Voorkom schuimvorming.
14. Label het transportbuisje met de vereiste informatie over de identificatie van het monster, inclusief de afnamedatum.

15. Decontamineer alle monsters, reagentia en andere mogelijk besmette materialen en voer deze af volgens de plaatselijke en nationale voorschriften.
16. Transporteer en bewaar het Xpert-transportmediumbuisje bij 2°C tot 30°C gedurende maximaal 60 dagen.

8.1.2.2 Endocervicaal uitstrijkje - afname, transport en opslag

Hieronder worden de aanwijzingen samengevat voor de afname en het transport van endocervicale uitstrijkjes met de Xpert® vaginale/endocervicale afnamekit voor monsters (Cepheid, cat nr. SWAB/A-50)

1. Open de Xpert CT/NG vaginale/endocervicale afnamekit voor monsters.
2. Verwijder voorafgaand aan de afname van het endocervicale monster met de Xpert CT/NG vaginale/endocervicale afnamekit voor monsters overtollig slijm van de baarmoederhals en het omringende slijmvlies met behulp van het grote, apart verpakte wattenstaafje. Trek de grotere verpakking van het reinigingswattenstaafje gedeeltelijk open en neem het wattenstaafje uit de verpakking. Reinig de baarmoederhals en het omringende slijmvlies en gooi het wattenstaafje weg.
Let op: bij afname van meerdere monsters hoeft het overtollige slijm maar één keer te worden verwijderd.
3. Open de verpakking die het Xpert-transportmediumbuisje met de roze dop bevat en het apart verpakte wattenstaafje voor monsterafname. Zet het buisje apart alvorens verder te gaan.
4. Open de verpakking van het wattenstaafje door de bovenkant van de verpakking open te trekken.
5. Neem het wattenstaafje uit de verpakking en zorg ervoor dat u de punt niet aanraakt of ergens neerlegt. Vraag om een nieuwe afnamekit als de zachte punt wordt aangeraakt, het wattenstaafje wordt neergelegd of het wattenstaafje valt.
6. Breng het wattenstaafje voorzichtig in het endocervicale kanaal in.
7. Draai het wattenstaafje voorzichtig 10 tot 30 seconden met de klok mee in het endocervicale kanaal voor een correcte monsterafname.
8. Neem het wattenstaafje voorzichtig uit het endocervicale kanaal.
9. Terwijl u het wattenstaafje in dezelfde hand houdt, draait u de dop los van het Xpert CT/NG-transportmediumbuisje.
10. Mors niet met de inhoud van het buisje. Vraag om een nieuwe afnamekit als u de inhoud van het buisje gemorst heeft.
11. Plaats het wattenstaafje meteen in het buisje met het transportmedium. Identificeer de markering op de steel van het wattenstaafje. Breek de steel voorzichtig tegen de zijkant van het buisje bij de markering en gooi het bovenste deel van de steel weg; doe dit voorzichtig om spatten van de inhoud te voorkomen.
12. Draai de dop weer op het transportmediumbuisje en draai deze goed vast.
13. Draai het buisje voorzichtig 3-4 keer om of schud het voorzichtig om materiaal uit het wattenstaafje te elueren. Voorkom schuimvorming.
14. Label het transportbuisje met de vereiste informatie over de identificatie van het monster, inclusief de afnamedatum.
15. Decontamineer alle monsters, reagentia en andere mogelijk besmette materialen en voer deze af volgens de plaatselijke en nationale voorschriften.
16. Transporteer en bewaar het Xpert-transportmediumbuisje bij 2°C tot 30°C gedurende maximaal 60 dagen.

8.1.3 Xpert®-afnamekit voor monsters (Cepheid, cat. nr. SWAB/G-50) - afname, transport en opslag

Hieronder worden de aanwijzingen samengevat voor de afname en het transport van rectale uitstrijkjes voor mannen en vrouwen met de Xpert-afnamekit voor monsters (Cepheid, cat nr. SWAB/G-50)

1. Open de Xpert-afnamekit voor monsters.
2. Open de buitenverpakking (die de tweedelige kit bevat), identificeer het grotere reinigingswattenstaafje en gooi dit weg.
3. Open de verpakking van het wattenstaafje door de bovenkant van de verpakking gedeeltelijk open te trekken.
4. Neem het wattenstaafje uit de verpakking en zorg ervoor dat u de punt niet aanraakt of ergens neerlegt. Gebruik een nieuwe Xpert-afnamekit voor monsters als de zachte punt wordt aangeraakt, het wattenstaafje wordt neergelegd of het wattenstaafje valt.
5. Breng het wattenstaafje voorzichtig in ongeveer 1 cm voorbij de anale sluitspier (zodat de zachte punt van het wattenstaafje niet meer zichtbaar is) en draai het wattenstaafje voorzichtig rond.
6. Neem het wattenstaafje voorzichtig uit de anus.
7. Terwijl u het wattenstaafje in dezelfde hand houdt, draait u de dop los van het Xpert-transportmediumbuisje.
8. Mors niet met de inhoud van het buisje. Gebruik een nieuwe afnamekit als u de inhoud van het buisje gemorst heeft.
9. Plaats het wattenstaafje meteen in het buisje met het transportmedium. Identificeer de markering op de steel van het wattenstaafje. Breek de steel voorzichtig tegen de zijkant van het buisje bij de markering en gooi het

- bovenste deel van de steel weg; doe dit voorzichtig om spatten van de inhoud te voorkomen. Was met water en zeep als u heeft gemorst.
10. Draai de dop weer op het transportmediumbuisje en draai deze goed vast.
 11. Draai het buisje voorzichtig 3-4 keer om of schud het voorzichtig om materiaal uit het wattenstaafje te elueren. Voorkom schuimvorming.
 12. Label het transportbuisje met de vereiste informatie over de identificatie van het monster, inclusief de afnamedatum.
 13. Transporteer en bewaar de monsters in het Xpert-transportmediumbuisje bij 2°C tot 30°C gedurende maximaal 60 dagen.

8.1.4 Xpert®-afnamekit voor urinemonsters (Cepheid, cat. nr. URINE/A-50) - verzamelen, transport en opslag

Hieronder worden de aanwijzingen samengevat voor het verzamelen en het transport van urinemonsters van mannen en vrouwen met de Xpert®-afnamekit voor urinemonsters (Cepheid, cat. nr. URINE/A-50)

1. De patiënt mag ten minste 1 uur voorafgaand aan het verzamelen van het monster niet hebben geplast. Vrouwelijke patiënten mogen de schaamstreek niet wassen voorafgaand aan het verzamelen van het monster. Mannelijke patiënten mogen het uiteinde van de penis niet wassen voorafgaand aan het verzamelen van het monster.
2. Vraag de patiënt om de eerst uitgeplaste urine (ongeveer 20 tot 50 mL) op te vangen in een urine-opvangbeker zonder conserveringsmiddelen. Het verzamelen van grotere hoeveelheden urine kan resulteren in het verdunnen van het monster, met als mogelijk gevolg een lagere gevoeligheid van de test.
3. Zorg ervoor dat de urine in de urinebeker goed gemengd is voordat u een monster overbrengt in het Xpert-buisje met transportmedium voor urine.
4. Open de verpakking van een wegwerppipet uit de kit.
5. Verwijder de dop van het Xpert-buisje met transportmedium en van de urine-opvangbeker.
6. Steek de pipet in de urinebeker zodat de opening zich bijna op de bodem van de beker bevindt. Breng met behulp van de pipet voor eenmalig gebruik ongeveer 7 mL urine over in het Xpert-buisje met transportmedium voor urine. De zwarte stippellijn op het etiket van het Xpert-buisje met transportmedium geeft het juiste volume urine aan.
7. Draai de dop weer op het Xpert-buisje met transportmedium voor urine en draai deze goed vast.
8. Kantel het reageerbuisje 3-4 keer om ervoor te zorgen dat het monster en het reagens goed zijn gemengd.
9. Sluit de urinebeker goed af.
10. Label de transportbuis met de vereiste informatie over de identificatie van het monster, inclusief de afnamedatum. Zorg ervoor dat u hierbij de vullijn op het Xpert-buisje met transportmedium voor urine niet bedekt.
11. Transporteer en bewaar de monsters van vrouwelijke urine in het Xpert-buisje met transportmedium voor urine bij 2°C tot 30°C gedurende maximaal 3 dagen of bij 2°C tot 15°C gedurende maximaal 45 dagen.
12. Transporteer en bewaar de monsters van mannelijke urine in het Xpert-buisje met transportmedium voor urine bij 2°C tot 30°C gedurende maximaal 45 dagen.

8.1.5 Steriele urine-opvangbeker – afname, transport en opslag

Voor het verzamelen van urinemonsters kan een steriele urine-opvangbeker gebruikt worden. Raadpleeg vanwege de variabiliteit de bijsluiter van de fabrikant voor de juiste verzamelmethode. Transporteer en bewaar de bekertjes met gebruik van standaard laboratoriumtechnieken.

8.1.6 Standaard FLOQSwab™ in 3 mL UTM™-medium (Copan, cat. nr. 346C of 306C (VS)) - afname, transport en opslag

Hieronder worden de aanwijzingen samengevat voor de afname en het transport van vagina-uitstrijkjes met de standaard FLOQSwab™ in 3 mL UTM™-medium (Copan, cat. nr. 346C of 306C (VS))

1. Open de verpakking van de UTM-kit en neem het reageerbuisje met medium en het zakje met het steriele wattenstaafje eruit.
2. Neem het steriele wattenstaafje uit het zakje en verzamel het klinische monster. Om het risico op contaminatie te voorkomen, moet u ervoor zorgen dat de punt van het wattenstaafje alleen in contact komt met de afnameplaats van het monster.
3. Nadat u het monster heeft afgenomen, schroeft u de dop van het reageerbuisje, waarbij u erop let dat u geen medium morst.
4. Plaats het wattenstaafje in het reageerbuisje zodat de breeklijn gelijk ligt met de opening van het reageerbuisje.

5. Buig en breek het wattenstaafje op de breeklijn terwijl u het reageerbuisje van uw gezicht af houdt en gooi het afgebroken deel van de steel weg.
6. Draai de dop weer op het reageerbuisje en draai deze goed vast.
7. Bewaar het reageerbuisje bij 2-25°C en verwerk het monster in het UTM-medium binnen 48 uur na afname.
8. Vortex het monster voorafgaand aan de verwerking gedurende 20 seconden om het monster uit het wattenstaafje te elueren en het medium te homogeniseren.

8.1.7 Cobas® PCR-medium (Roche, cat. nr. 06466281190) - afname, transport en opslag

Hieronder worden de aanwijzingen samengevat voor de afname en het transport van urinemonsters van mannen en vrouwen in Cobas® PCR-medium (Roche, cat. nr. 06466281190)

1. Meng de urine en breng deze, met behulp van een pipet voor eenmalig gebruik (niet meegeleverd), over in de Cobas®-reageerbuis met PCR-medium. Let op: urine kan maximaal 24 uur worden bewaard bij 2 tot 30 °C voordat deze wordt overgebracht in de Cobas®-reageerbuis met PCR-medium.
2. De twee zwarte lijnen op het etiket van de reageerbuis geven het juiste volume urine aan.
3. Draai de dop weer op de Cobas®-reageerbuis met PCR-medium en draai deze goed vast.
4. Kantel de reageerbuis 5 keer om te mengen. Het monster is nu klaar voor transport en onderzoek.
5. Transporteer en bewaar de Cobas®-reageerbuis met PCR-medium met daarin het gestabiliseerde urinemonster bij 2 tot 30 °C.

8.1.8 Droog wattenstaafje, geresuspendeerd in 3 mL PBS - afname, transport en opslag

Droge wattenstaafjes kunnen worden gebruikt voor afname van verschillende monsters door artsen en patiënten. Raadpleeg vanwege de variabiliteit de bijsluiters van de fabrikant voor de juiste monstertypes en verzamelmethoden.

8.2 **Bereiding van MG FleXible-reactiemengsel**

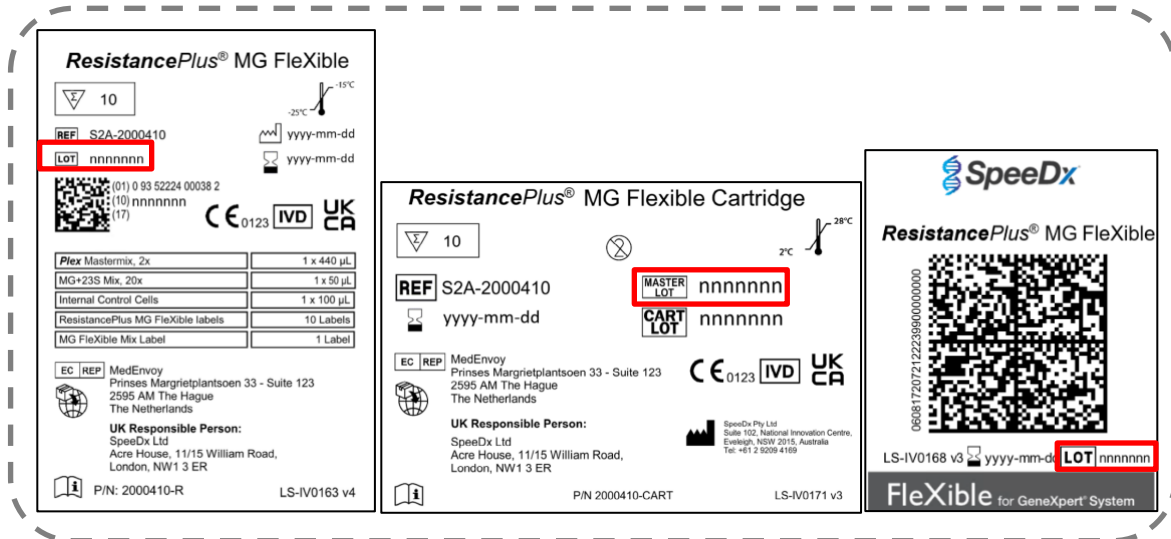
Raadpleeg **Tabel 1** voor een beschrijving van de inhoud van de kit.

Opmerking: Bij instellen van de assay moet hetzelfde hoofdpartijnummer van het product worden gebruikt voor doos 1 (assay-reagentia), doos 2 (patronen) en **ResistancePlus®** MG FleXible-etiketten (**Afbeelding 4** aangeduid in rood).

Opmerking: Controleer patronen op integriteit en controleer of de reactiebuis intact is.

Opmerking: Controleer voor het gebruik en voordat de patroon van een etiket wordt voorzien of alle reagentia en patronen binnen de houdbaarheidsdatum liggen.

Afbeelding 4. Het nummer van de HOOFDPARTIJ moet hetzelfde zijn op doos 1 (links; *ResistancePlus*[®] MG *FleXible*-assay-reagentia, P/N:2000410-R), doos 2 (midden; *ResistancePlus*[®] MG *FleXible*-patronen, P/N:2000410-CART) en *ResistancePlus*[®] MG *FleXible*-etiketten (rechts)



Bevestig het *ResistancePlus*[®] MG *FleXible*-etiket op de voorkant van de patroon als afgebeeld in **Afbeelding 5**.

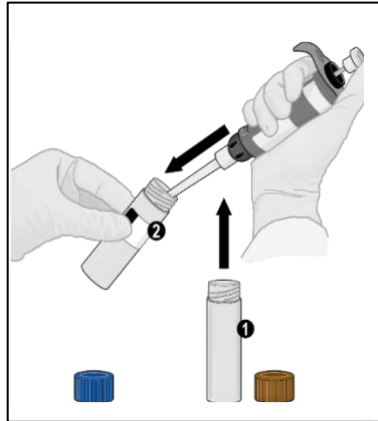
Afbeelding 5. Breng het *ResistancePlus*[®] MG *FleXible*-etiket aan



Opmerking: Vóór gebruik moeten de reagentia volledig worden ontdooid en goed worden gemengd door ze kort te vortexen en uit te laten draaien.

Voor het maken van het MG *FleXible*-reactiemengsel: pipetteer 44 µL *MG+23S Mix* (**BRUIN**) in de *Plex Mastermix*-buis (**BLAUW**) zoals afgebeeld in **Afbeelding 6**. Dit reactiemengsel is genoege voor 10 reacties.

Afbeelding 6. MG FleXible-reactiemengsel bereiden



(Optioneel) Om resten van het gecombineerde MG FleXible-reactiemengsel op te slaan, kan de inhoud in de **Plex Mastermix**-buis (**BLAUW**) blijven en kan de buis een nieuwe opschrift krijgen met het MG FleXible Mix-etiket. Registreer de aanmaakdatum in de daarvoor bestemde ruimte op het etiket.

- Het gecombineerde MG FleXible-reactiemengsel kan maximaal 8 weken worden opgeslagen bij -25°C tot -15°C . Aanbevolen wordt het aantal invries-ontdooicycli te beperken tot minder dan 8.

Plaats het deksel van de **Plex Mastermix**-buis (**BLAUW**) terug en draai het aan. Vortexen en uit laten draaien als afgebeeld in **Afbeelding 7**.

Afbeelding 7. MG FleXible-reactiemengsel vortexen

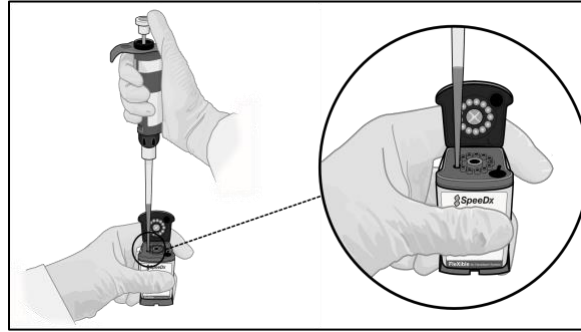


Werp **MG+23S Mix** buis (**BRUIN**) weg.

Open het deksel van de patroon.

Pipeteer $44\ \mu\text{L}$ van het gecombineerde MG FleXible-reactiemengsel in de reactiekamer (kleine opening links van de patroon als afgebeeld in **Afbeelding 8**). Steek de punt zo diep mogelijk verticaal in de kamer voordat u de oplossing uitneemt. Tik voorzichtig de onderkant van de patroon op de bank om de oplossing te laten neerslaan.

Afbeelding 8. MG FlexiBle-reactiemengsel in de reactiekamer laden

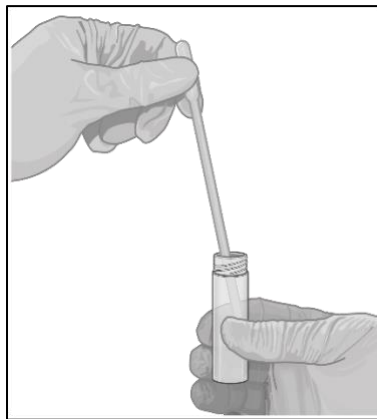


8.3 Monster toevoegen

Opmerking: Gebruik alleen overdrachtpipetten om een monster aan de patroon toe te voegen.

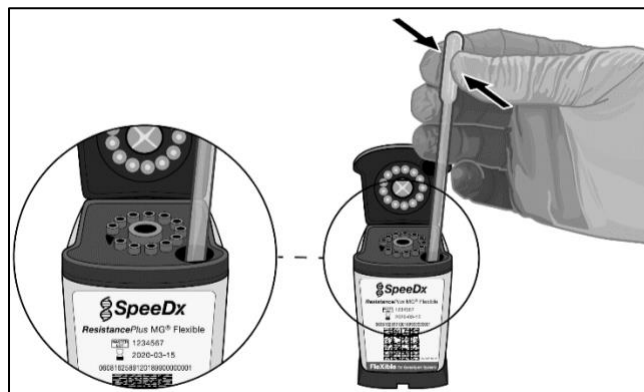
Open het deksel van de monsterbuis, knijp in de bal van de overdrachtpipet, steek de pipet in de monsterbuis en laat de bal langzaam los om de overdrachtpipet te vullen tot de 1mL-markering op de pipet. Het geaspireerde monster mag geen luchtballen bevatten (**Afbeelding 9**).

Afbeelding 9. Monster aspireren in de overdrachtpipet



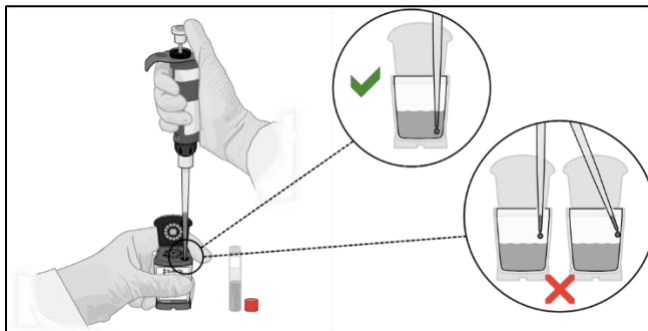
Breng het monster over uit de pipet naar de monsterkamer van de patroon (grote opening rechtsonder op de patroon) in **Afbeelding 10**.

Afbeelding 10. Monster toevoegen aan monsterkamer



Voeg 10 μ L interne controlecellen (**ROOD**) toe aan de monsterkamer als afgebeeld in **Afbeelding 11**. Zorg ervoor dat de punt in het monster is ondergedompeld voordat u de *interne controlecellen* overbrengt. De patroon niet roeren of schudden.

Afbeelding 11. Interne controlecellen toevoegen



Sluit het deksel van de patroon als afgebeeld in **Afbeelding 12**.

Afbeelding 12. Deksel sluiten



Opmerking: De patroon moet binnen 30 minuten na bereiding worden geladen.

9 Het instrument programmeren

De **ResistancePlus® MG FleXible**-assay moet worden uitgevoerd met een **GeneXpert®**-instrumentsysteem met **GeneXpert®**-softwareversie 4.7b of hoger, of **Infinity Xpertise**-software versie 6.4b of hoger.

Het **ResistancePlus MG FleXible ADF**-bestand (Assay-definitiebestand - Assay Definition File) moet in de software worden geïmporteerd voordat u de test de eerste keer uitvoert.

Opmerking: De volgende stappen zijn gebaseerd op **GeneXpert®**-software, versie 4.7b en kunnen afwijken als de standaard workflow van het systeem door de systeembeheerder is gewijzigd.

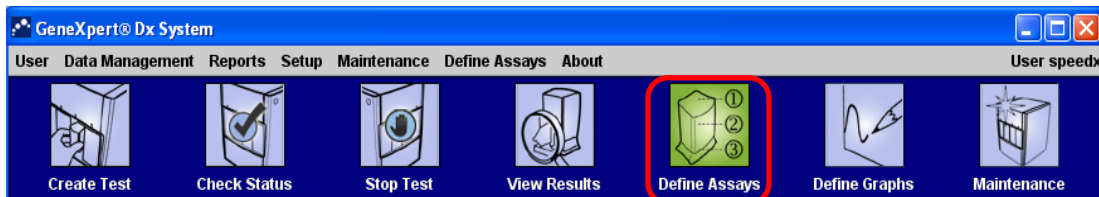
9.1 De ADF in de software importeren

In het hoofdmenu van de **GeneXpert® Dx**-software

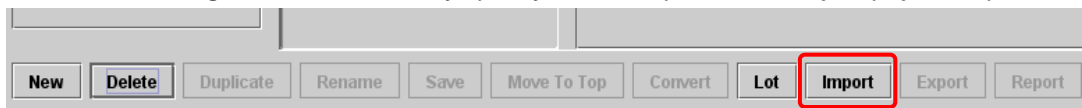
Selecteer **Define Assays** (Afbeelding 13) (Assays definiëren)

Selecteer **Import** (Afbeelding 14)

Afbeelding 13. Hoofdmenu – Selecteer Define Assays (Assays definiëren)

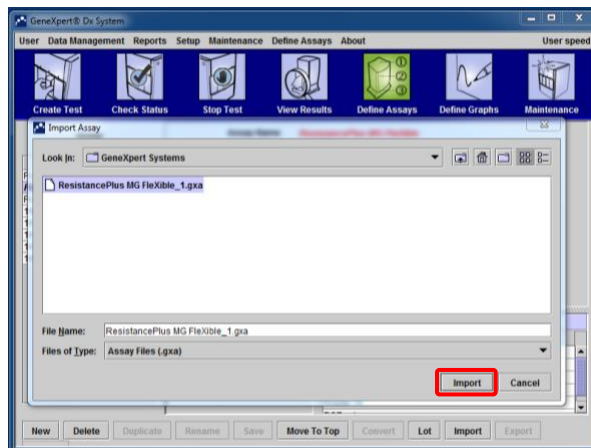
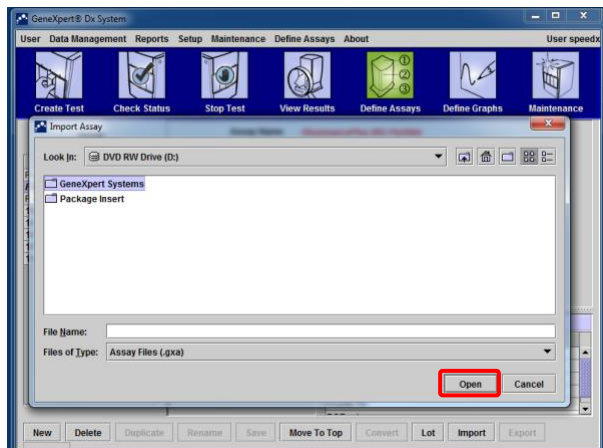


Afbeelding 14. Menu Define Assays (Assays definiëren) – Selecteer Import (Importeren)



Blader in het venster **Import Assay** (Assay importeren) naar de locatie van de ADF en selecteer **Import** (Afbeelding 15) (Importeren)

Afbeelding 15. Blader naar de locatie met de ADF (links) en Import Assay (Assay importeren) (rechts)



Selecteer in de Infinity Xpertise-software het **Home**-pictogram om de Home workspace in de Xpertise-software weer te geven

Selecteer de **Setup**-knop

Selecteer in het Setup-menu de optie **Manage Assays**

Klik in de werkruimte Manage Assays op **Import**. Het dialoogvenster Import Assay verschijnt.

Blader naar de locatie van de ADF en klik vervolgens op de knop **Open** in het dialoogvenster Import Assay.

9.2 De test starten

Opmerking: De volgende stappen kunnen afwijken als de systeembeheerder de standaard workflow van het systeem gewijzigd heeft.

In het hoofdmenu van de GeneXpert® Dx-software

Selecteer **Create Test** (GeneXpert Dx **Afbeelding 16**) of selecteer **Orders** en **Order Test** (Infinity Xpertise)

Afbeelding 16. Hoofdmenu – Create Test



In het venster Create Test van de GeneXpert® Dx-software (**Afbeelding 17**) of de werkruimte Order Test van de Infinity Xpertise-software:

Voer **Patient ID** (Patiënt-ID) (optioneel) in door te scannen of te typen.

Voer in **Sample ID** (Monster-ID) door te scannen of typen.

Selecteer **Scan Cartridge Barcode**

Scan de streepjescode op het **ResistancePlus®** MG FleXible-etiket. Met behulp van de informatie in de streepjescode vult de software automatisch de vakken voor de volgende velden:

- Select Assay (Assay selecteren)
- Reagent Lot ID (Partij-ID reagentia)
- Cartridge SN (Serienummer patroon)
- Expiration Date (Houdbaarheidsdatum)

Opmerking: Als de streepjescode op het **ResistancePlus®** MG FleXible-etiket niet kan worden gescand, neem dan contact op met de technische ondersteuning (**paragraaf 16**) voor instructies over hoe verder te gaan.

Voor **Select Assay**

Controleer of de **Name** wordt weergegeven als '**ResistancePlus MG FleXible**'

Om de test te starten op het GeneXpert® Dx-instrument:

Klik op **Select Module** en kies de vereiste module

Selecteer **Start Test** (voer eventueel een wachtwoord in)

Een knipperend groen lampje geeft de geselecteerde module aan

- Laad de patroon waarbij de reactiebuis naar de achterkant van de module gericht is
- Sluit de deur van de module
- Het groene lampje stopt met knipperen en blijft aan om aan te geven dat de test wordt uitgevoerd

Om de test te starten op het GeneXpert® Infinity-instrument:

- Selecteer **Submit** (voer eventueel een wachtwoord in)
- Plaats een patroon op de transportband
- Het Infinity-instrument laadt de patroon automatisch en voert de test uit.

Na afloop van de test:

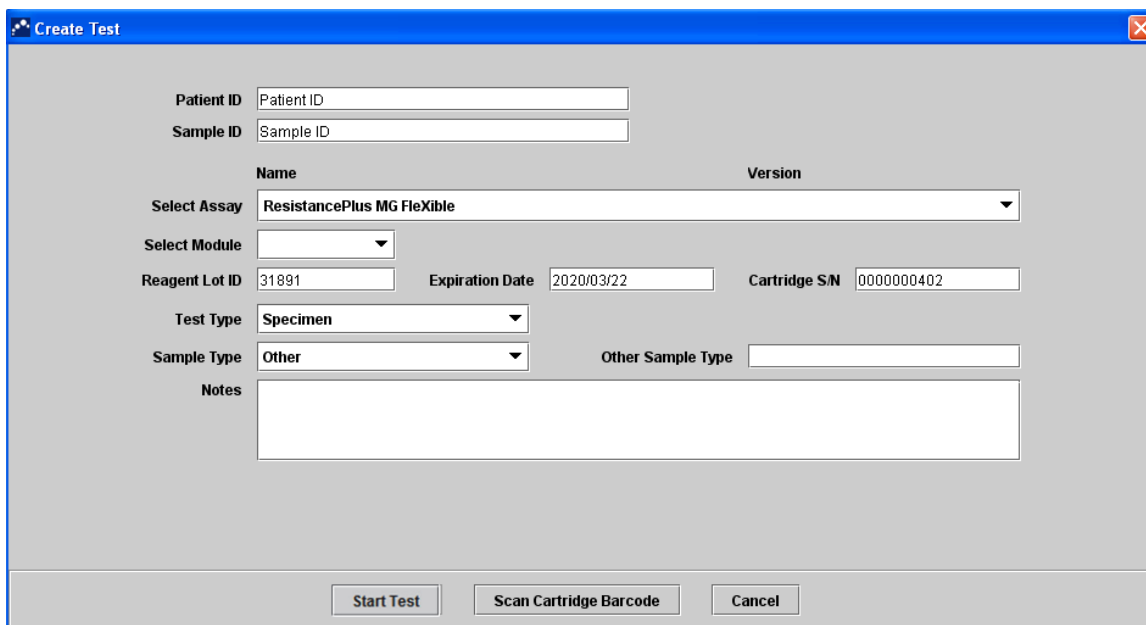
Voor het GeneXpert® Dx-instrument:

- Het lampje dooft en de deur opent
- Patronen moeten met de hand worden uitgenomen en worden afgevoerd met de passende verwijderprocedures voor gevaarlijk afval

Voor het GeneXpert® Infinity-instrument:

- De gebruikte patroon wordt automatisch in de afvalbak geplaatst.

Afbeelding 17. Venster Test maken



The screenshot shows a 'Create Test' window with the following fields and options:

- Patient ID:
- Sample ID:
- Select Assay: **ResistancePlus MG Flexible** (dropdown menu)
- Select Module:
- Reagent Lot ID:
- Expiration Date:
- Cartridge S/N:
- Test Type: **Specimen** (dropdown menu)
- Sample Type: **Other** (dropdown menu)
- Other Sample Type:
- Notes:

Buttons at the bottom: **Start Test**, **Scan Cartridge Barcode**, **Cancel**

10 Kwaliteitscontrole

Elke test bevat een interne controle en een Sondecontrole (PCC - Probe Check Control)

De interne controle (IC) bewaakt de efficiëntie van de extractie en de PCR-remming. De *interne controlecellen* zijn *Escherichia coli*-cellen die het interne controle DNA-sjabloon bevatten dat aan het monster wordt toegevoegd en dat wordt meegeëxtraheerd en meeversterkt in de reactie. De IC is geldig als deze voldoet aan de acceptatiecriteria. Voor een negatief analytmonster moet de IC geldig zijn om het monster te laten bepalen als een geldig negatief. Voor een positief analytmonster heeft het IC-bereik geen invloed op het algehele testresultaat.

Voordat de PCR start, wordt een sondecontrole uitgevoerd door het GeneXpert-systeem. Het fluorescentiesignaal wordt gemeten om het laden van het mengsel, het vullen van de reactiebuis, de integriteit van de sonde en de stabiliteit van de kleurstof te bewaken. De sondecontrole is in orde als deze voldoet aan de gevalideerde acceptatiecriteria.

Externe controles (positieve en negatieve controles) moeten conform de protocollen van uw instelling worden uitgevoerd. De **ResistancePlus**[®] MG S2A Positive Control-kit wordt aangeraden als positief controlemateriaal voor de amplificatie van nucleïnezuur. Zie **paragraaf 11** voor instructies over het gebruik van de **ResistancePlus**[®] MG S2A Positive Control. Aanbevolen wordt om een bekend negatief specimen als negatieve controle te gebruiken.

11 Instructies voor **ResistancePlus**[®] MG S2A Positive Control

De **ResistancePlus**[®] MG S2A Positive Control-kit bevat positief controlemateriaal voor *M. genitalium* 23S rRNA-mutanten alsmede een *M. genitalium* 23S rRNA wildtype (**Tabel 2**).

Tabel 2. Inhoud van de kit voor de ResistancePlus [®] MG S2A Positive Control kit			
Kleur dop	Inhoud	Beschrijving	Hoeveelheid
Wit	MG, 23S rRNA wildtype	Positieve controlematrijs voor de detectie van <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA wildtype	2 x 100 µL
Groen	MG, 23S rRNA A2058G	Positieve controlematrijs voor de detectie van <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA mutatie A2058G	2 x 100 µL
Oranje	MG, 23S rRNA A2059G	Positieve controlematrijs voor de detectie van <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA mutatie A2059G	2 x 100 µL
Blauw	MG, 23S rRNA A2058T	Positieve controlematrijs voor de detectie van <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA mutatie A2058T	2 x 100 µL
Geel	MG, 23S rRNA A2058C	Positieve controlematrijs voor de detectie van <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA mutatie A2058C	2 x 100 µL
Neutraal	Dilution Buffer (Verdunningsbuffer)	Verdunner	10 x 1 mL

11.1 Gebruiksaanwijzing

Opmerking: Vóór gebruik moeten de reagentia volledig worden ontdooid en goed worden gemengd door ze kort te vortexen en uit te laten draaien.

Bereid het MG Flexible-reactiemengsel zoals beschreven in **paragraaf 8.2**.

11.1.1 Bereiding van positief controlemonster met een micropipet

- Pipetteer 1 mL *verdunningsbuffer* (**NEUTRAAL**) in een positieve controle-buis (bijv. *MG, 23S rRNA wildtype (WIT)*).
- Deksel weer aanbrengen en vastzetten. Vortexen en uit laten draaien.
- Voeg 1 mL van het verdunde positieve controlemonster toe aan een patroon zoals beschreven in **paragraaf 8.3**.
- Start de positieve controletest als beschreven in **paragraaf 9.2**.

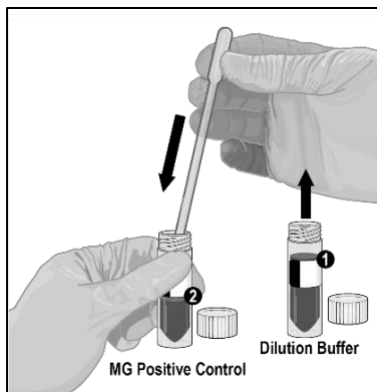
11.1.2 Bereiding van positief controlemonster met een overdrachtpipet

- Open het deksel van de buis voor de *verdunningsbuffer* (**NEUTRAAL**). Druk de bal van de overdrachtpipet in, steek de punt langzaam in de buis voor de *verdunningsbuffer* tot ongeveer een kwart van de bodem. Geef **voorzichtig** de druk in de bol vrij om de overdrachtpipet te vullen terwijl u de punt langzaam naar de bodem van de buis brengt (**Afbeelding 18**). Zorg ervoor dat de overdrachtpipet tot ongeveer de 1 mL-markering is gevuld.
- Steek de overdrachtpipet in de positieve controlebuis (bijv. *MG, 23S rRNA wildtype (WIT)*) zodat hij de binnenwand raakt, en laat de *verdunningsbuffer* **voorzichtig** uit de overdrachtpipet lopen. Haal de overdrachtpipet uit de buis.
- Knijp de bal van de overdrachtpipet in, steek de punt van de overdrachtpipet voorzichtig in de verdunde positieve controle onder het vloeistofniveau, en laat de bal **voorzichtig** los terwijl u de punt langzaam naar de bodem van de buis brengt. Zorg ervoor dat de overdrachtpipet tot ongeveer de 1 mL-markering is gevuld.
- Voeg 1 mL van het verdunde positieve controlemonster toe aan een patroon zoals beschreven in de **paragraaf 8.3**.

- Start de positieve controletest als beschreven in **paragraaf 9.2**.

Raadpleeg **paragraaf 13** voor voorbeeldresultaten.

Afbeelding 18. Voeg 1 mL verdunningsbuffer toe aan de MG positieve controle



12 Interpretatie van de resultaten

De interpretatie van de resultaten van de *ResistancePlus*[®] MG FlexiBle-assay is geautomatiseerd door de GeneXpert[®]-systeemsoftware aan de hand van gemeten fluorescentiesignalen en ingebouwde berekeningsalgoritmen.

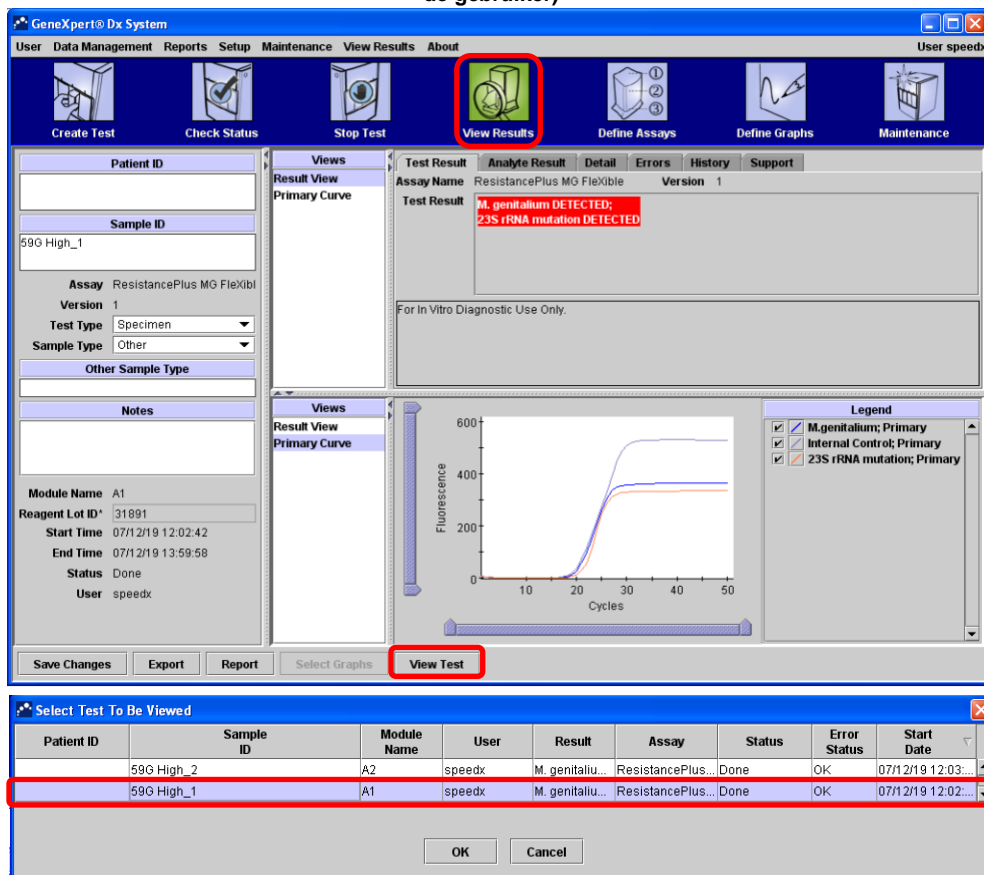
In het hoofdmenu van de GeneXpert[®] Dx-software

Selecteer **View Results** (Resultaten weergeven) (**Afbeelding 19**) > Selecteer **View Test** (Test weergeven)

In het venster **Select Test to Be Viewed**

Selecteer de gewenste test en selecteer **OK**

Afbeelding 19. View Results (Resultaten weergeven) (de weergave kan afwijken afhankelijk van de installatie van de gebruiker)



The screenshot shows the GeneXpert Dx System software interface. The 'View Results' button in the top menu is highlighted in red. The main window displays test results for '59G High_1'. The 'Test Result' tab is selected, showing 'M. genitalium DETECTED;' and '23S rRNA mutation DETECTED'. Below this is a primary curve graph showing fluorescence over cycles. A legend on the right lists 'M.genitalium; Primary', 'Internal Control; Primary', and '23S rRNA mutation; Primary'. At the bottom of the main window, the 'View Test' button is highlighted in red. Below the main window is a 'Select Test To Be Viewed' dialog box with a table of test results.

Patient ID	Sample ID	Module Name	User	Result	Assay	Status	Error Status	Start Date
59G High_2		A2	speedx	M. genitaliu...	ResistancePlus...	Done	OK	07/12/19 12:03:...
59G High_1		A1	speedx	M. genitaliu...	ResistancePlus...	Done	OK	07/12/19 12:02:...

In het venster **View Results** (Resultaten weergeven)

In **Views** > selecteert u **Result View** (Resultaten weergeven)

- > Selecteer de tab **Test Result** (Testresultaat) om het algehele testresultaat te bekijken
- > Selecteer het tabblad **Analyte Result** (Analietresultaat) om Ct-waarden voor alle analieten te bekijken

In **Views** > selecteer **Primary curve** om de amplificatiecurve te bekijken

Selecteer in de Infinity Xpertise-software de knop **Results** (Resultaten). Het Results-menu wordt weergegeven.

Selecteer in het Results-menu de knop **View Results** (resultaten weergeven). Het venster View Results wordt weergegeven.

In het venster View Results (resultaten weergeven)

- > Selecteer de tab **Test Result** (Testresultaat) om het algehele testresultaat te bekijken
- > Selecteer het tabblad **Analyte Result** (Analietresultaat) om Ct-waarden voor alle analieten te bekijken
- > Selecteer **Amplification Curve** (Vergrotingscurve) om vergrotingscurves te bekijken

OPMERKING: Het wordt ten sterkste aanbevolen om amplificatiecurven te beoordelen voor alle positieve monsters.

13 Voorbeeldresultaten

De volgende voorbeelden tonen het algehele testresultaat op het tabblad Test Result (Testresultaat), en amplificatiecurven en analyt Ct-waarden van het tabblad Analyte Result (Analytresultaat), binnen het venster View Results (Resultaten weergeven) van de GeneXpert® Dx-software.

Voorbeeld 1. *M. genitalium*, 23S rRNA-mutantmonster

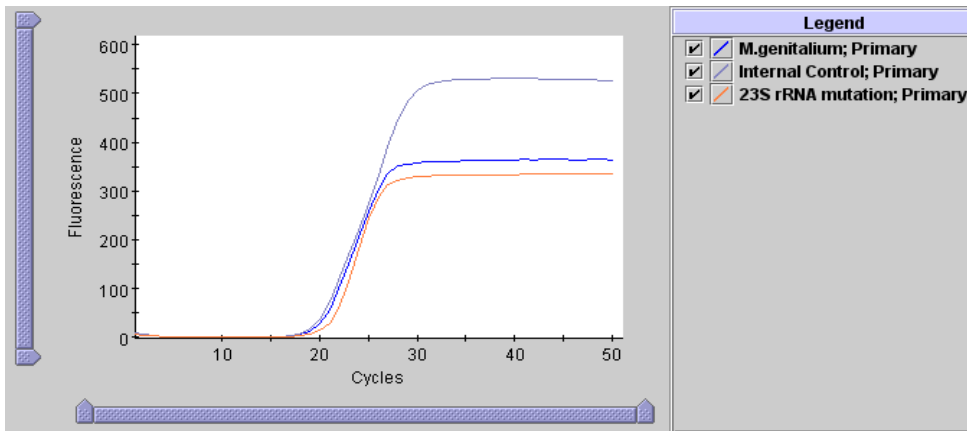
Result view (Resultaten weergeven) > tabblad Test Result (Testresultaat)

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Assay Name	ResistancePlus MG Flexible		Version 1		
Test Result	M. genitalium DETECTED; 23S rRNA mutation DETECTED				
For In Vitro Diagnostic Use Only.					

Result view (Resultaten weergeven) > tabblad Analyte Result (Analytresultaat)

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	
M.genitalium	20.6	364	POS	PASS	
Internal Control	20.4	527	NA	PASS	
23S rRNA mutation	21.1	334	POS	PASS	

Primaire curve



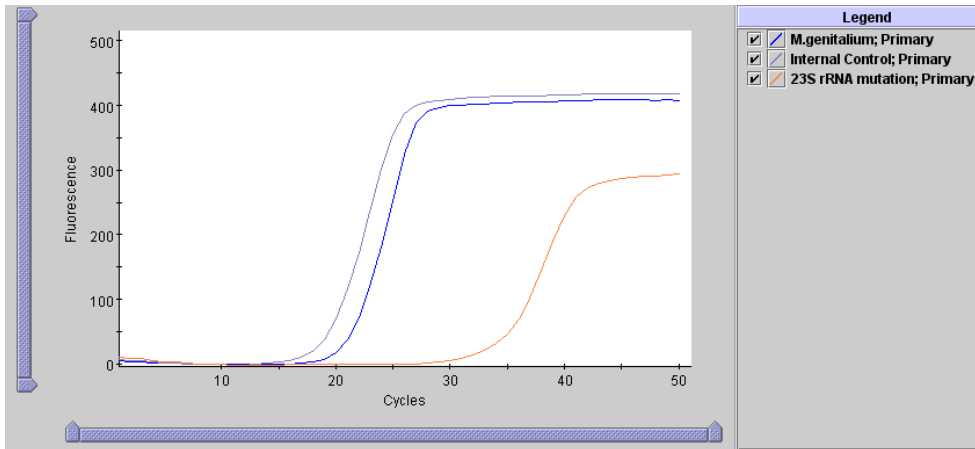
Testresultaat	Interpretatie
M. genitalium GEDETECTEERD; 23S rRNA-mutatie GEDETECTEERD	<p><i>M. genitalium</i> en 23S rRNA mutatietaarget-DNA gedetecteerd</p> <ul style="list-style-type: none"> • PCR-amplificatie van <i>M. genitalium</i> en 23S rRNA mutatietaargets geven Cts binnen het geldige bereik • Interne controle: Niet van toepassing (NA) als <i>M. genitalium</i> is gedetecteerd • Sondecontrole: GOEDGEKEURD; alle sondecontroles zijn in orde

Voorbeeld 2. *M. genitalium*, 23S rRNA wildtype monster
Result view (Resultaten weergeven) > tabblad Test Result (Testresultaat)

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Assay Name ResistancePlus MG Flexible Version 1					
Test Result M. genitalium DETECTED; 23S rRNA mutation NOT DETECTED					
For In Vitro Diagnostic Use Only.					

Result view (Resultaten weergeven) > tabblad Analyte Result (Analytresultaat)

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	
M.genitalium	21.2	408	POS	PASS	
Internal Control	19.4	418	NA	PASS	
23S rRNA mutation	33.9	293	POS	PASS	

Primaire curve


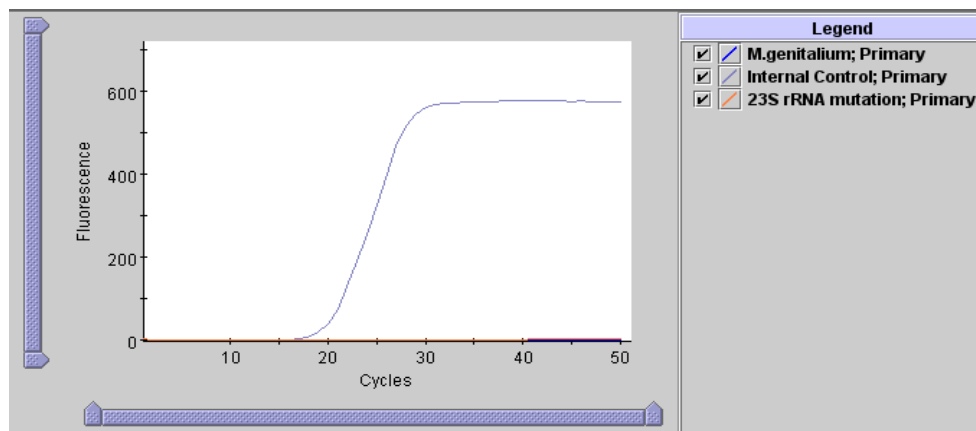
Testresultaat	Interpretatie
M. genitalium GEDETECTEERD; 23S rRNA-mutatie NIET GEDETECTEERD	<p><i>M. genitalium</i> target-DNA gedetecteerd; 23S rRNA mutatietaarget-DNA niet gedetecteerd</p> <ul style="list-style-type: none"> • PCR-amplificatie van <i>M. genitalium</i> target geeft een Ct binnen het geldige bereik; 23S rRNA mutatietaarget is afwezig of niet binnen het geldige bereik. • Interne controle: Niet van toepassing (NA) als <i>M. genitalium</i> is gedetecteerd • Sondecontrole: GOEDGEKEURD; alle sondecontroles zijn in orde

Voorbeeld 3. *M. genitalium* negatief monster
Result view (Resultaten weergeven) > tabblad Test Result (Testresultaat)

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Assay Name ResistancePlus MG Flexibile Version 1					
Test Result M. genitalium NOT DETECTED; 23S rRNA mutation NOT DETECTED					
For In Vitro Diagnostic Use Only.					

Result view (Resultaten weergeven) > tabblad Analyte Result (Analietresultaat)

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	
M.genitalium	0.0	1	NEG	PASS	
Internal Control	20.3	575	PASS	PASS	
23S rRNA mutation	0.0	4	NEG	PASS	

Primaire curve


Testresultaat	Interpretatie
M. genitalium NIET GEDETECTEERD; 23S rRNA-mutatie NIET GEDETECTEERD	<i>M. genitalium</i> target-DNA niet gedetecteerd <ul style="list-style-type: none"> <i>M. genitalium</i> target afwezig of buiten het geldige bereik Interne controle: GOEDGEKEURD; PCR-amplificatie van interne controle geeft een Ct binnen het geldige bereik Sondecontrole: GOEDGEKEURD; alle sondecontroles zijn in orde

Voorbeeld 4. Ongeldig monster

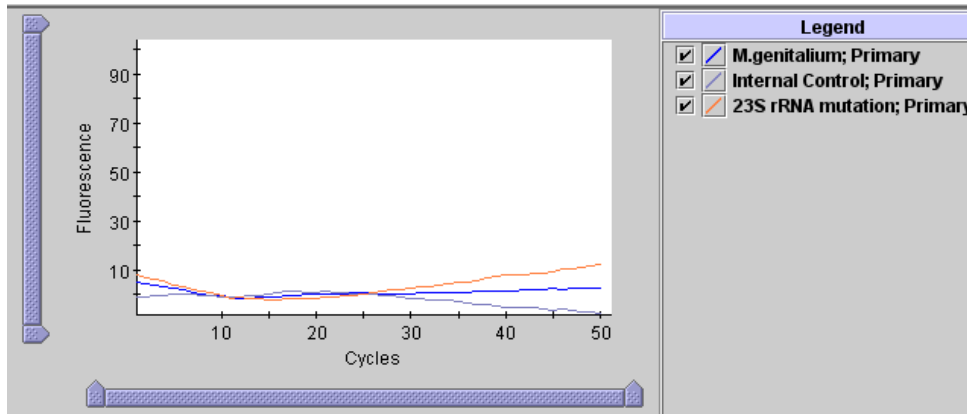
Result view (Resultaten weergeven) > tabblad Test Result (Testresultaat)

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Assay Name		ResistancePlus MG Flexible		Version 1	
Test Result		INVALID			
For In Vitro Diagnostic Use Only.					

Result view (Resultaten weergeven) > tabblad Analyte Result (Analietresultaat)

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	
M.genitalium	0.0	3	INVALID	PASS	
Internal Control	0.0	-7	FAIL	PASS	
23S rRNA mutation	0.0	12	INVALID	PASS	

Primaire curve



Testresultaat	Interpretatie
ONGELDIG	<p>Aan- of afwezigheid van <i>M. genitalium</i> en 23S rRNA mutatietaarget-DNA kan niet worden bepaald. Herhaal de test met het oorspronkelijke monster en ga door vanaf paragraaf 8.2. Als de herhaalde test geen geldig resultaat oplevert, verzamel dan een nieuw monster om opnieuw te testen.</p> <ul style="list-style-type: none"> Interne controle: NIET GOEDGEKEURD; het resultaat van de interne controle ontbreekt, of Ct is niet binnen het geldige bereik Sondecontrole: GOEDGEKEURD; alle sondecontroles zijn in orde

Voorbeeld 5. Foutresultaat

Result view (Resultaten weergeven) > tabblad Test Result (Testresultaat)

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Assay Name ResistancePlus MG Flexible Version 1					
Test Result ERROR					
For In Vitro Diagnostic Use Only.					

Result view (Resultaten weergeven) > tabblad Analyte Result (Analietresultaat)

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	
M.genitalium	0.0	0	NO RESULT	FAIL	
Internal Control	0.0	0	NO RESULT	FAIL	
23S rRNA mutation	0.0	0	NO RESULT	FAIL	

Testresultaat	Interpretatie
FOUT	<p>Aan- of afwezigheid van <i>M. genitalium</i> en 23S rRNA mutatietaarget-DNA kan niet worden bepaald. Herhaal de test met het oorspronkelijke monster en ga door vanaf paragraaf 8.2. Als de herhaalde test geen geldig resultaat oplevert, verzamel dan een nieuw monster om opnieuw te testen.</p> <ul style="list-style-type: none"> Interne controle: GEEN RESULTAAT Sondecontrole: NIET GOEDGEKEURD*; alle of een van de sondecontroles is mislukt. De sondecontrole kan zijn mislukt omdat het reactiemengsel verkeerd was bereid, of omdat de reactiekamer onjuist was gevuld, of omdat een integriteitsprobleem met het mengsel is gedetecteerd. <p>* Als de sondecontrole is geslaagd, wordt de fout veroorzaakt door een storing in een systeemcomponent of detectie van signaalverlies of een andere fout</p>

Voorbeeld 6. Geen resultaat

Result view (Resultaten weergeven) > tabblad Test Result (Testresultaat)

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Assay Name	ResistancePlus MG Flexible		Version 1		
Test Result	NO RESULT				
For In Vitro Diagnostic Use Only.					

Testresultaat	Interpretatie
GEEN RESULTAAT	<p>Aan- of afwezigheid van <i>M. genitalium</i> en 23S rRNA mutatietaarget-DNA kan niet worden bepaald. Herhaal de test met het oorspronkelijke monster en ga door vanaf paragraaf 8.2. Als de herhaalde test geen geldig resultaat oplevert, verzamel dan een nieuw monster om opnieuw te testen.</p> <p>Er werden onvoldoende gegevens verzameld om een testresultaat op te leveren (bijv. operator heeft een test gestopt die in uitvoering was of er is een storing in een systeemcomponent opgetreden).</p>

14 Beperkingen

- De **ResistancePlus**[®] MG Flexible-assay richt zich tegelijkertijd op het *MgPa*-gen voor *M. genitalium* en op mutaties op posities 2058 en 2059 in het 23S rRNA-gen (A2058G, A2059G, A2058T en A2058C, *E. coli*-nummering) die worden geassocieerd met resistentie tegen azitromycine (macrolide-antibioticum).
- Aangetoond is dat de **ResistancePlus**[®] MG Flexible-assay kruisreacties vertoont met de *M. genitalium*, 23S rRNA A2059C mutantreeksen.
- De **ResistancePlus**[®] MG Flexible-assay dient uitsluitend te worden uitgevoerd door personeel dat opgeleid werd voor de procedure en deze moet worden uitgevoerd overeenkomstig deze gebruiksaanwijzing.
- Betrouwbare resultaten zijn afhankelijk van afdoende verzameling, vervoer, opslag en verwerking van de specimen. Het niet volgen van de juiste procedures in een van deze stappen kan tot onjuiste resultaten leiden.
- De **ResistancePlus**[®] MG Flexible-assay is een kwalitatieve assay en levert geen kwantitatieve waarden of informatie over de hoeveelheid organismen.
- Met urinespecimens kan assay-interferentie worden waargenomen bij aanwezigheid van bloed (>0,4% v/v) of bilirubine (>0,18 mg/mL).
- Resultaten van de test moeten gecorreleerd worden met de klinische geschiedenis, epidemiologische gegevens, laboratoriumgegevens en alle andere gegevens waarover de arts beschikt.
- De prevalentie van *M. genitalium* en resistentie tegen macroliden zal de positieve en negatieve voorspellende waarden voor de assay beïnvloeden.
- Detectie van aanwijzingen voor resistentie tegen antibiotica correleren mogelijk niet met de fenotypische genexpressie.
- Het welslagen of mislukken van de therapie kan niet worden bepaald aan de hand van assay-resultaten, omdat nog steeds nucleïnezuren aanwezig kunnen zijn na een passende antimicrobiële therapie.
- Negatieve resultaten sluiten de mogelijkheid van infectie als gevolg van de onjuiste verzameling van monsters, technische fouten, de aanwezigheid van inhibitoren, dooreenhalen van specimens, of kleine aantallen organismen in het klinische specimen niet uit.
- Negatieve resultaten voor de resistentie-aanwijzingen duiden niet op gevoeligheid voor gedetecteerde micro-organismen, omdat resistentie-aanwijzingen die door de assay niet zijn gemeten of andere potentiële mechanismen van resistentie tegen antibiotica aanwezig kunnen zijn.
- Onjuiste positieve resultaten kunnen optreden als gevolg van kruisbesmetting door doelorganismen, hun nucleïnezuren of een versterkt product.

15 Prestatiekarakteristieken

15.1 Klinische prestaties

Er werd een prospectieve-retrospectieve klinische studie uitgevoerd in het STD Laboratory, University of Alabama, Birmingham, Alabama, VS. Er werden monsters verzameld vanaf september 2018 tot maart 2019, en gebaseerd op een in-house *M. genitalium* pdhD real-time PCR (uitgevoerd aan het Johns Hopkins Center for Point-of-Care Tests for Sexually Transmitted Diseases, Baltimore, Maryland, VS), werden 21 *M. genitalium* positieve en 54 opeenvolgende *M. genitalium* negatieve monsters geselecteerd voor opname in de studie. De 76 specimens bestonden uit 38 mannelijke urine (verzameld in Xpert® Urine Specimen Collection Kit) en 38 vaginale uitstrijkjes (verzameld in Xpert® Vaginal/Endocervical Specimen Collection kit). Om de prestaties te bepalen van de **ResistancePlus®** MG FlexiBle-kit, werd *M. genitalium*-detectie vergeleken met het pdhD real-time PCR-resultaat en werd 23S rRNA-mutantdetectie vergeleken met Sanger sequencing. De gevoeligheid en specificiteit van de **ResistancePlus®** MG FlexiBle-kit wat betreft *M. genitalium*-detectie en 23S rRNA-mutantdetectie zijn weergegeven in **Tabel 3**. Een specimen (vaginaal uitstrijkje) werd gemeld als ongeldig door **ResistancePlus®** MG FlexiBle en werd van analyse uitgesloten. Voor analyse van 23S rRNA-mutatiedetectie werden alleen monsters gebruikt waarvan de mutantstatus kon worden vastgesteld. De analyse van de resultaten volgens specimentype is weergegeven in **Tabel 4**. De 23S rRNA-mutatieanalyse is weergegeven in **Tabel 5**.

		Referentie <i>M. genitalium</i> -detectie (pdhD qPCR)		Referentie Detectie van 23S rRNA- mutanten (Sanger sequencing)		
		MG positief	MG negatief	Mutant	Wildtype	
ResistancePlus MG FlexiBle	MG positief	21	2	Mutant	13	0
	MG negatief	0	52	Mutant niet gedetecteerd	1	7
	Totaal	21	54	Totaal	14	7
Gevoeligheid		100,0% (95% BI 83,9 – 100,0%)		Gevoeligheid	92,9% (95% BI 66,1 – 99,8%)	
Specificiteit		96,3% (95% BI 87,3 – 98,7%)		Specificiteit	100,0% (95% BI 59,0 – 100,0%)	

Specimen	Verwacht MG negatief	Verwacht MG positief, 23S rRNA wildtype	Verwacht MG positief, 23S rRNA-mutant
Urine man	33/33	1/1	3/4 ¹
Vaginaal uitstrijkje vrouw	22/22	6/6	10/10

* Monsters werden in deze analyse opgenomen als ze een geldig resultaat hadden van zowel de referentietest als de **ResistancePlus®** MG FlexiBle-test

¹ 1 monster werd ten onrechte aangeduid als *M. genitalium* gedetecteerd, 23S rRNA-mutant niet gedetecteerd

Referentieresultaat	Resultaat ResistancePlus® MG FlexiBle
Wildtype	7/7
A2059G	8/8
A2058G	5/6 ¹

¹ 1 monster werd ten onrechte aangeduid als *M. genitalium* gedetecteerd, 23S rRNA-mutant niet gedetecteerd

15.2 Analytische prestaties

15.2.1 Reproduceerbaarheid

Een onderzoek naar reproduceerbaarheid is uitgevoerd over testlocaties, instrumenten, partijen, operators, runs en dagen voor de **ResistancePlus**[®] MG Flexible-kit, met panels geprepareerd uit een matrix van een urine- en vaginaal uitstrijkje. Er zijn tests uitgevoerd op twee locaties. Elk panel bevatte drie replicaten van een panellid getest op 3x LOD. Elk paneel bevatte drie negatieve monsters. Panels werden tweemaal per dag getest over drie niet-opvolgende dagen door drie operators, wat een totaal opleverde van 54 waarnemingen per panellid (3 replicaten per run x 2 runs x 3 dagen x 3 operators = 54 waarnemingen). In het onderzoek waren ten minste drie partijen van de **ResistancePlus**[®] MG Flexible-kit opgenomen.

Alle geldige testruns werden opgenomen in de analyse van de percentage-overeenkomst voor elke target van de **ResistancePlus**[®] MG Flexible-kit voor elk paneltype apart.

Reproduceerbaarheidresultaten van urinepanels: Procentuele overeenkomst voor alle monsters was 100% (**Tabel 6**). Analyse van variantie-componenten (**Tabel 7 - Tabel 9**) van de Cq-waarden uitgevoerd op positieve panelleden leverden algehele CV-bereiken op van 0,00% tot 4,07%, van 0,54% tot 4,23% en van 0,25% tot 6,04% voor respectievelijk de targets MgPa, IC en 23S.

Reproduceerbaarheidresultaten van panels vaginaal uitstrijkje: Procentuele overeenkomst voor alle monsters was 100% (**Tabel 10**). Analyse van variantie-componenten (**Tabel 11 - Tabel 13**) van de Cq-waarden uitgevoerd op positieve panelleden leverden algehele CV-bereiken op van 0,10% tot 2,69%, van 0,02% tot 2,57% en van 0,18% tot 2,86% voor respectievelijk de targets MgPa, IC en 23S.

Tabel 6. Urinemonsters: Overeenkomstpercentage						
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	Locatie 1 (GeneXpert XVI)		Locatie 2 (GeneXpert Infinity-48s)		Totale overeenkomst per doel	
	n.v.t	Hit rate (%)	n.v.t	Hit rate (%)	n.v.t	Hit rate (%)
A2058C	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0
A2058G	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0
A2058T	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0
A2059G,	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0
WT	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0

^a n/N = aantal correct geïdentificeerde monsters/totaal aantal geteste monsters

Tabel 7. Urinemonsters: Samenvatting van reproduceerbaarheidsgegevens voor het MgPa-target													
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	n/N ^a	Overeenstemming (%)	Gemiddelde Cq	Tussen partijen		Tussen dagen		Tussen operators		Tussen runs		Tussen instrumenten	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
A2058C	54/54	100	27,93	0,66	2,38	0,23	0,81	0,47	1,66	0,69	2,47	0,57	2,03
A2058G	54/54	100	28,78	1,10	3,88	0,42	1,46	0,62	2,17	0,79	2,78	0,76	2,63
A2058T	54/54	100	31,27	1,12	3,62	0,30	0,98	1,04	3,36	1,21	3,90	1,27	4,07
A2059G	54/54	100	29,42	0,77	2,62	0,59	2,01	0,09	0,32	0,77	2,62	0,00	0,00
Wildtype	54/54	100	30,81	0,62	2,01	0,38	1,25	0,21	0,68	0,51	1,65	0,24	0,78
<i>M. genitalium</i> negatief	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

^a n/N = aantal correct geïdentificeerde monsters/totaal aantal geteste monsters

Tabel 8. Urinemonsters: Samenvatting van reproduceerbaarheidsgegevens voor het 23S rRNA-mutatietarget													
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	n/N ^a	Overeenstemming (%)	Gemiddelde Cq	Tussen partijen		Tussen dagen		Tussen operators		Tussen runs		Tussen instrumenten	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
A2058C	54/54	100	28,47	1,09	3,83	0,61	2,15	0,59	2,07	0,94	3,29	0,85	2,98
A2058G	54/54	100	33,54	0,25	0,74	0,15	0,45	0,26	0,77	0,74	2,21	0,09	0,25
A2058T	54/54	100	32,18	0,73	2,30	0,09	0,28	0,46	1,44	1,21	3,80	0,40	1,23
A2059G	54/54	100	30,02	1,04	3,47	1,20	3,97	1,48	4,88	1,83	6,04	1,24	4,14
Wildtype	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>M. genitalium</i> negatief	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

^a n/N = aantal correct geïdentificeerde monsters/totaal aantal geteste monsters

Tabel 9. Urinemonsters: Samenvatting van reproduceerbaarheidsgegevens voor het IC-target													
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	n/N ^a	Overeenstemming (%)	Gemiddelde Cq	Tussen partijen		Tussen dagen		Tussen operators		Tussen runs		Tussen instrumenten	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
A2058C	54/54	100	19,46	0,72	3,77	0,34	1,78	0,67	3,49	0,68	3,54	0,82	4,23
A2058G	54/54	100	18,82	0,44	2,37	0,36	1,91	0,11	0,61	0,39	2,09	0,10	0,54
A2058T	54/54	100	19,07	0,29	1,55	0,31	1,62	0,28	1,45	0,57	3,02	0,25	1,31
A2059G	54/54	100	19,17	0,79	4,19	0,17	0,87	0,65	3,45	0,62	3,28	0,80	4,18
Wildtype	54/54	100	19,21	0,66	3,44	0,49	2,57	0,54	2,82	0,67	3,54	0,66	3,43
<i>M. genitalium</i> negatief	54/54	100	19,72	0,69	3,52	0,42	2,12	0,22	1,13	0,53	2,67	0,27	1,38

^a n/N = aantal correct geïdentificeerde monsters/totaal aantal geteste monsters

Tabel 10. Monsters vaginale uitstrijkjes: Overeenkomstpercentage						
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	Locatie 1 (GeneXpert XVI)		Locatie 2 (GeneXpert Infinity-48s)		Totale overeenkomst per doel	
	n.v.t	Hit rate (%)	n.v.t	Hit rate (%)	n.v.t	Hit rate (%)
A2058C	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0
A2058G	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0
A2058T	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0
A2059G	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0
WT	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0

^a n/N = aantal correct geïdentificeerde monsters/totaal aantal geteste monsters

Tabel 11. Monsters vaginale uitstrijkjes: Samenvatting van reproduceerbaarheidsgegevens voor het MgPa-target

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	n/N ^a	Overeenstemming (%)	Gemiddelde Cq	Tussen partijen		Tussen dagen		Tussen operators		Tussen runs		Tussen instrumenten	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
A2058C	54/54	100	26,49	0,09	0,35	0,22	0,85	0,25	0,94	0,41	1,57	0,30	1,12
A2058G	54/54	100	25,69	0,15	0,58	0,17	0,66	0,39	1,53	0,55	2,13	0,19	0,73
A2058T	54/54	100	27,00	0,45	1,68	0,03	0,10	0,64	2,36	0,69	2,55	0,14	0,51
A2059G	54/54	100	27,16	0,15	0,53	0,12	0,45	0,08	0,29	0,37	1,38	0,10	0,36
Wildtype	54/54	100	28,38	0,48	1,71	0,32	1,14	0,43	1,52	0,76	2,69	0,44	1,56
<i>M. genitalium</i> negatief	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

^a n/N = aantal correct geïdentificeerde monsters/totaal aantal geteste monsters

Tabel 12. Monsters vaginale uitstrijkjes: Samenvatting van reproduceerbaarheidsgegevens voor het 23S rRNA-mutatietarget

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	n/N ^a	Overeenstemming (%)	Gemiddelde Cq	Tussen partijen		Tussen dagen		Tussen operators		Tussen runs		Tussen instrumenten	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
A2058C	54/54	100	27,13	0,09	0,35	0,20	0,74	0,58	2,15	0,59	2,18	0,66	2,45
A2058G	54/54	100	30,64	0,47	1,54	0,24	0,78	0,18	0,58	0,61	2,00	0,41	1,35
A2058T	54/54	100	28,89	0,46	1,60	0,05	0,18	0,17	0,60	0,53	1,84	0,33	1,13
A2059G	54/54	100	27,71	0,49	1,77	0,19	0,70	0,52	1,88	0,79	2,86	0,23	0,82
Wildtype	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>M. genitalium</i> negatief	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

^a n/N = aantal correct geïdentificeerde monsters/totaal aantal geteste monsters

Tabel 13. Monsters vaginale uitstrijkjes: Samenvatting van reproduceerbaarheidsgegevens voor het IC-target

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	n/N ^a	Overeenstemming (%)	Gemiddelde Cq	Tussen partijen		Tussen dagen		Tussen operators		Tussen runs		Tussen instrumenten	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
A2058C	54/54	100	17,02	0,23	1,36	0,11	0,62	0,24	1,44	0,32	1,89	0,13	0,74
A2058G	54/54	100	17,78	0,33	1,87	0,09	0,51	0,30	1,69	0,42	2,36	0,06	0,32
A2058T	54/54	100	17,06	0,14	0,79	0,10	0,60	0,30	1,76	0,29	1,72	0,36	2,13
A2059G	54/54	100	17,59	0,11	0,65	0,10	0,55	0,09	0,50	0,26	1,47	0,07	0,40
Wildtype	54/54	100	17,18	0,25	1,47	0,30	1,72	0,07	0,39	0,31	1,83	0,00	0,02
<i>M. genitalium</i> negatief	54/54	100	17,28	0,45	2,57	0,06	0,35	0,41	2,36	0,41	2,37	0,22	1,27

^a n/N = aantal correct geïdentificeerde monsters/totaal aantal geteste monsters

15.2.2 Analytische gevoeligheid

Er werden representatieve *M. genitalium*-stammen gebruikt om de analytische gevoeligheid te beoordelen (Limiet van Detectie of LOD). Elke *M. genitalium*-stam was verdund in een matrix van negatieve urinemonsters en negatieve vaginale uitstrijkjes. De LOD is gedefinieerd op de laagste concentratie (uitgedrukt als het aantal genomen per monster) dat met een vertrouwen van 95 % reproduceerbaar kan worden onderscheiden van negatieve monsters.

De resultaten voor elke *M. genitalium*-stam zijn weergegeven in **Tabel 14**.

Tabel 14. LOD van elk target van de <i>ResistancePlus</i> [®] MG Flexible-kit			
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	Stam	Urine	Vaginaal uitstrijkje
		LOD (genomen per monster)	LOD (genomen per monster)
WT	G37	157	157
A2058C	M6302	317	317
A2059G	M6593	147	220
A2058G	M6604	387	387
A2058T	M6926	151	151

15.2.3 Inclusiviteit

Een inclusiviteitsonderzoek is uitgevoerd om de reactiviteit van de *ResistancePlus*[®] MG Flexible-kit te testen met 8 stammen van *M. genitalium*. De *M. genitalium*-isolaten representeerden verschillende 23S rRNA-mutanten van diverse geografische locaties (isolaten waren afkomstig uit de volgende landen, met tussen haakjes het aantal stammen: Australië (2), Denemarken (3), Noorwegen (1), VK (1), VS (1)). Elke stam was verdund in een matrix van negatieve urinespecimens en negatieve vaginale uitstrijkje specimens. Alle isolaten zijn getest op een concentratie van 2x LOD in replicaten van drie waarbij één partij van de *ResistancePlus*[®] MG Flexible-kit werd gebruikt. Alle stammen werden correct gedetecteerd.

Resultaten zijn samengevat in **Tabel 15**.

Tabel 15. <i>M. genitalium</i> -stammen getest op inclusiviteit	
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	Stam
Wildtype	M2300
	M2321
	M2341
	M30 vroeg
A2058G	M6271
A2059G	M6303
	M6320
A2058C	M6848

15.2.4 Kruisreactie met andere 23S rRNA-mutaties

Een synthetische DNA-constructie die *M. genitalium* MgPa en A2059C 23S rRNA-targets bevatte, was getest op 5000 exemplaren in een achtergrond van 35 ng DNA-invoer per monster. De resultaten toonden aan dat de *ResistancePlus*[®] MG Flexible test kruisreageert met het *M. genitalium*, A2059C 23S rRNA-target met een > 90% hit rate. Analytische prestaties van de *ResistancePlus*[®] MG Flexible test bij het detecteren van deze mutatie werden niet geëvalueerd.

15.2.5 Analytische specificiteit

Er werd een onderzoek uitgevoerd om de kruisreactiviteit met de **ResistancePlus**[®] MG FleXible-kit te evalueren bij aanwezigheid van niet-targetorganismen in hoge concentraties. Er werd een paneel geëvalueerd bestaande uit bacteria, virussen, fungi en protozoa die pathogenen of flora representeren welke gewoonlijk aanwezig zijn in het urogenitale systeem, of die nauw samenhangen met *M. genitalium*. Elke bacteriële stam werd getest op 1×10^6 genomen/mL, behalve waar anders aangegeven. Virale stammen werden getest op 1×10^5 genomen/mL, behalve waar anders aangegeven. Alle andere organismen werden getest bij de opgegeven concentraties. Alle bacteriële en virale organismen werden gekwantificeerd met qPCR, behalve degene opgesomd als gekwantificeerd met Colony Forming Units (CFU) (kolonievormende eenheden) of Plaque Forming Units (PFU) (plaque-vormende eenheden) (**Tabel 16**). Alle micro-organismen zijn in drievoud getest op kruisreacties met de **ResistancePlus**[®] MG FleXible-kit. Alle geteste micro-organismen werden verdund in negatieve klinische matrix (urine).

Resultaten gaven aan dat geen van deze organismen onjuiste positieve resultaten opleverden in de *M. genitalium*-negatieve urine-matrix (**Tabel 16**).

Er werd eveneens een *in silico*-analyse uitgevoerd om te evalueren of de oligonucleotiden in de **ResistancePlus**[®] MG FleXible-kit nucleïnezuurreeksen van niet-targetorganismen die beschikbaar zijn in BLAST zouden kunnen versterken en detecteren. Er werden geen significante interacties gedetecteerd.

Tabel 16. Micro-organismen getest voor analytische specificiteit					
Organisme	Concentratie (genomen/mL)	Organisme	Concentratie (genomen/mL)	Organisme	Concentratie (genomen/mL)
<i>Actinomyces israelii</i>	1×10^6	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1×10^6	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1×10^6
<i>Bacteroides fragilis</i>	1×10^6	<i>Haemophilus ducreyi</i>	1×10^6	<i>Pentatrichomonas hominis</i>	$1 \times 10^{5\Delta}$
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1×10^6	Herpes simplex virus I	1×10^5	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1×10^6
<i>Campylobacter jejuni</i>	1×10^6	Herpes simplex virus II	1×10^6	<i>Prevotella bivia</i>	1×10^6
<i>Candida albicans</i>	1×10^5	HPV type 18 (HeLa-cellen)	$1 \times 10^{5*}$	<i>Propionibacterium acnes</i>	1×10^5
<i>Candida glabrata</i>	1×10^6	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1×10^6	<i>Proteus mirabilis</i>	1×10^6
<i>Candida parapsilosis</i>	1×10^6	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1×10^6	<i>Proteus vulgaris</i>	1×10^6
<i>Candida tropicalis</i>	1×10^5	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1×10^6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1×10^6
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1×10^6	<i>Lactobacillus jensenii</i>	1×10^6	<i>Staphylococcus aureus</i>	1×10^6
<i>Clostridium perfringens</i>	1×10^6	<i>Lactobacillus vaginalis</i>	1×10^6	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1×10^6
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1×10^6	<i>Listeria monocytogenes</i>	1×10^6	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1×10^6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1×10^6	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1×10^5	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1×10^6
<i>Enterobacter cloacae</i>	1×10^6	<i>Mycoplasma hominis</i>	1×10^6	<i>Trichomonas vaginalis</i>	$1 \times 10^{5\Delta}$
<i>Enterococcus faecalis</i>	1×10^6	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1×10^6	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1×10^5

* Gekwantificeerd als PFU/mL

Δ Gekwantificeerd als CFU/mL

15.2.6 Potentieel interfererende substanties

Er werd een onderzoek naar interfererende substanties uitgevoerd om te onderzoeken of substanties of condities die aanwezig kunnen zijn in klinische specimens de prestaties van de **ResistancePlus**[®] MG FleXible-kit zouden kunnen beïnvloeden. Het paneel bestond uit endogene substanties zoals bloed, mucinen, leukocyten en medicijnen (op recept en algemeen verkrijgbaar) die gebruikt zouden kunnen worden om urogenitale condities te behandelen. Alle substanties werden getest in aan- en afwezigheid van een representatieve *M. genitalium* A2058G-stam op 3x LOD. Alle testmonsters werden in drievoud getest. Substanties werden passend verdund in negatieve klinische matrix (hetzij urine of vaginaal uitstrijkje).

Met uitzondering van bilirubine, volbloed en Vagisil intiem poeder, gaven de resultaten aan dat geen van de substanties en condities interfereerden met de detectie van de representatieve *M. genitalium* A2058G-stam of valse positieve resultaten produceerden in de *M. genitalium* negatieve matrices bij de genoemde concentraties.

Met urinespecimens kan assay-interferentie worden waargenomen bij aanwezigheid van:

- Bloed bij een concentratie groter dan 0,4% v/v
- Bilirubine bij een concentratie groter dan 0,18 mg/mL

Met vaginale uitstrijkje specimens kan assay-interferentie worden waargenomen bij aanwezigheid van:

- Vagisil intiem poeder bij een concentratie groter dan 0,1% w/v

Resultaten zijn samengevat in **Tabel 17** en **Tabel 18**.

Tabel 17. Potentieel interfererende substanties in urinemonsters		
Klasse/substantie	Productnaam	Testconcentratie
Volbloed	-	0,4% v/v [^]
Zaad	-	5,0% v/v
Mucus	Mucinen	0,8% w/v
Antibioticum	Azitromycine	1,8 mg/mL
Analgeticum	Paracetamol	3,2 mg/mL
Intravaginale hormonen	Progesterone; Oestradiol	7 mg/mL Progesterone + 0,07 mg/mL Beta Oestradiol
Leukocyten	-	10 ⁵ cellen/mL
Albumine	Runderalbumine	10 mg/mL
Glucose	-	10 mg/mL
Bilirubine	-	0,18 mg/mL [*]
Zure urine (pH 4,0)	Urine + N-Acetyl-L-Cysteïne	pH 4,0
Alkalische urine (pH 9,0)	Urine + ammoniumcitraat	pH 9,0

^{*} Interferentie kan worden waargenomen in monsters die meer dan 0,18 mg/m bilirubine bevatten

^{*} Interferentie kan worden waargenomen in monsters die meer dan 0,4% volbloed bevatten

Tabel 18. Potentieel interfererende substanties in vaginale uitstrijkmonsters		
Klasse/substantie	Productnaam	Testconcentratie
Algemeen verkrijgbare vaginale producten en contraceptieven	Vagisil Anti-Itch Crème (1,0 oz) - (anti-jeukcrème)	0,25% w/v
	K-Y Jelly (4,0 oz)	0,25% w/v
	Options Gynol II Vaginal Contraceptive Gel - (vaginale contraceptieve gel)	0,25% w/v
	Walgreens Clotrimazole Vaginal Cream (1,5 oz) - (vaginale crème)	0,25% w/v
	Vagi-gard douche	0,25% w/v
	Vagisil ProHydrate Natural Feel Internal Moisturizing Gel (0,2 oz x 8 pack) - (interne hydraterende gel)	0,25% w/v
	Vagisil Daily Intimate Deodorant Powder (8,0 oz) - (dagelijks intiem deodorantpoeder)	0,10% w/v*
Deodoranten en poeders	Summer's Eve Deodorant spray (2,0 oz) - (deodorantspray)	0,25% v/v
Aambeienzalf	Preparation H Hemorrhoidal Cream (0,9 oz) - (aambeienzalf)	0,25% w/v
Medicijnen uitsluitend op recept	Estrace® (oestradiol vaginale zalf, USP 0,01%)	0,25% w/v

* Interferentie kan worden waargenomen in monsters die meer dan 0,1% w/v Vagisil intiem poeder bevatten

15.2.7 Studie naar vervuiling door overdracht

Een studie is uitgevoerd om aan te tonen dat GeneXpert-patronen voor eenmalig gebruik vervuiling door overdracht voorkomen in runs met negatieve monsters na runs met zeer hoge positieve monsters in dezelfde GeneXpert-module. De studie bestond uit een negatief monster verwerkt in dezelfde GeneXpert-module direct volgend op een monster met een hoge MG-concentratie (synthetisch DNA; 10⁶ exemplaren/mL van A2058C-target). Monsters zijn getest in twee GeneXpert-modules gedurende in totaal 40 runs, wat 20 positieven en 20 negatieven opleverde. Met de negatieve monsters zijn geen valse positieven waargenomen, wat aangeeft dat vervuiling door overdracht niet optreedt tussen runs op de GeneXpert.

16 Klantenondersteuning en technische ondersteuning

Voordat u contact opneemt met Cepheid Technical Support moet u de volgende informatie verzamelen:

- Productnaam
- Partijnummer
- Serienummer van instrument
- Foutmelding (indien aanwezig)
- Softwareversie en indien van toepassing het Computer Service Tag nummer

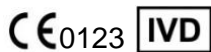
Tabel 19. Contactgegevens voor technische ondersteuning		
Regio	Telefoon	E-mail
Australië en Nieuw Zeeland	+1800 130 821 +0800 001 028	techsupportANZ@cepheid.com
Oostenrijk	+43 720 380 091	support@cepheideurope.com
Frankrijk	+33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Duitsland	+49 21 513 280 100	support@cepheideurope.com
Italië	+39 800 902 567	support@cepheideurope.com
Spanje	+34 919 90 67 62	support@cepheideurope.com
Polen	+48 225 048 523	support@cepheideurope.com
Portugal	+351 800 913 174	support@cepheideurope.com
Verenigd Koninkrijk	+44 3303 332 533	support@cepheideurope.com
België, Nederland en Luxemburg	+33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Andere landen in Europa, Midden-Oosten en Afrika	+33 563 825 319 +971 4 253 3218	support@cepheideurope.com

Contactgegevens voor andere ondersteunende kantoren van Cepheid is beschikbaar op www.cepheid.com or www.cepheidinternational.com onder de tab **SUPPORT**. Selecteer de optie **Contact Us**.

17 Referenties

1. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2015) Diseases characterized by urethritis and cervicitis in Sexually Transmitted Diseases Guidelines. 2015. <http://www.cdc.gov/std/tg2015/urethritis-and-cervicitis.htm>
2. Taylor-Robinson D, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: from Chrysalis to multicolored butterfly. Clin Microbiol Rev. 2011;24:498–514.
3. Manhart LE, Broad JM, Golden MR. Mycoplasma genitalium: should we treat and how? Clin Infect Dis. 2011 Dec;53 Suppl 3:S129-42.
4. Cazanave C, Manhart LE, Bébéar C. Mycoplasma genitalium, an emerging sexually transmitted pathogen. Med Mal Infect. 2012 Sep;42(9):381-92
5. Jensen JS, Bradshaw CS, Tabrizi SN, Fairley CK, Hamasuna R. Azithromycin treatment failure in Mycoplasma genitalium-positive patients with nongonococcal urethritis is associated with induced macrolide resistance. Clin Infect Dis. 2008 Dec 15;47(12):1546-53.
6. Jensen JS. Hoofdstuk 8: Protocol for the Detection of Mycoplasma genitalium by PCR from Clinical Specimens and Subsequent Detection of Macrolide Resistance-Mediating Mutations in Region V of the 23S rRNA Gene in Diagnosis of Sexually Transmitted Diseases: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 903, Science+Business Media New York 2012.
7. Bissessor M, Tabrizi SN, Twin J, Abdo H, Fairley CK, Chen MY, Vodstrcil LA, Jensen JS, Hocking JS, Garland SM, Bradshaw CS. Macrolide resistance and azithromycin failure in a Mycoplasma genitalium-infected cohort and response of azithromycin failures to alternative antibiotic regimens. Clin Infect Dis. 2015 Apr 15;60(8):1228-36.

18 Woordenlijst



Europese conformiteit voor
In Vitro diagnostisch gebruik



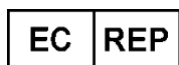
Catalogusnummer



Hoofdpartij



Partijcode



Geautoriseerde
vertegenwoordiger in de
Europese gemeenschap



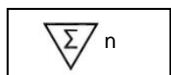
Fabrikant



Aanmaakdatum



Temperatuurbepering



Bevat voldoende voor <n>
bepalingen



Houdbaarheidsdatum



Waarschuwing



Niet hergebruiken



Raadpleeg instructies voor
het gebruik



Positieve controle

P/N

Onderdeelnummer



Europese importeur



Verenigd Koninkrijk Markering
voor conformiteitsbepaling

SpeedX-producten worden mogelijk beschermd door één of meer plaatselijke of buitenlandse octrooien. Raadpleeg www.plexpcr.com/patents voor uitgebreide octrooi-informatie.

PlexPCR[®], **ResistancePlus**[®], **PlexPrime**[®] en **PlexZyme**[®] zijn handelsmerken van SpeedX. Overige auteursrechten en handelsmerken zijn het eigendom van de respectieve rechthebbende.

© Copyright 2024 SpeedX Pty. Ltd.